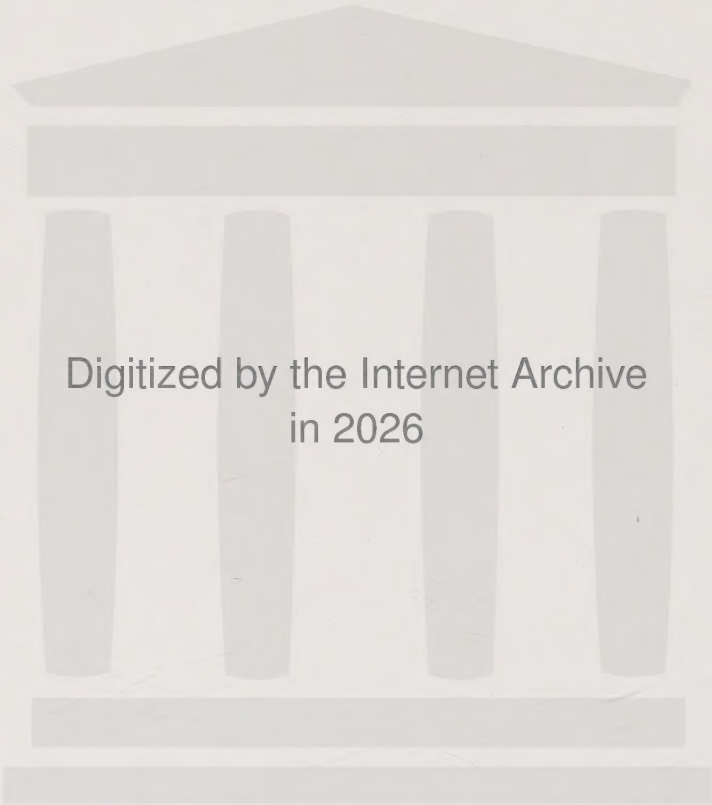
Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Beeinflussung endocriner Parameter durch ein Retrosteroid (Ro 4-8347) bei Frauen mit Ovarialinsuffizienz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Eberhard Schmidt
aus Berlin

1969


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547603_0099

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Beeinflussung endocriner Parameter durch ein Retrosteroid (Ro 4-8347) bei Frauen mit Ovarialinsuffizienz

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Eberhard Schmidt
aus Berlin

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. R. Blobel (Prof. Dr. H. Roemer)
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. P. Göbel

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung und Problemstellung	1
1.00	Das Retrosteroid Ro 4-8347	1
.10	Tierexperimentelle Untersuchungen	1
.20	Erste klinische Untersuchungen	2
2.00	Spezielle Fragestellung	4
II.	Material und Methoden	5
1.00	Vorbemerkungen	5
.10	Gonadotropine	5
.20	Pregnandiol	6
.30	17-Ketosteroide	8
.40	Thermogenetischer Effekt	10
2.00	Zur Dosierung des Präparates Ro 4-8347	10
.10	Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium)	10
.20	Untersuchungsgruppe II (Patientinnen mit Zyklusstörungen)	10
3.00	Zeitpunkt der Urinuntersuchungen	11
4.00	Gonadotropinbestimmung	11
.10	Untersuchungsmaterial	11
.20	Gonadotropinextraktion	11
.30	Biologische Bestimmungsmethode	11
5.00	Pregnandiolbestimmung	12
.10	Untersuchungsmaterial	12
.20	Pregnandioldarstellung	12
6.00	Bestimmung der neutralen 17-Ketosteroide	13
.10	Untersuchungsmaterial	13
.20	Ausführung	13
7.00	Basaltemperaturmessung	14
8.00	Verträglichkeitsüberwachung	14
9.00	Zur statistischen Auswertung	14
III.	Eigene Untersuchungen	15
1.00	Untersuchungen an Frauen im Klimakterium	15
.10	Anamnesen	15
.20	Ergebnisse der Dosisgruppe I (2 mg/die)	17
.21	Gonadotropine	17
.22	Pregnandiol	17
.23	17-Ketosteroide	17
.30	Ergebnisse der Dosisgruppe II (4 mg Ro 4-8347)	18
.31	Gonadotropine	18
.32	Pregnandiol	18
.33	17-Ketosteroide	18
.40	Ergebnisse der Dosisgruppe III (6 mg /die)	19
.41	Gonadotropine	19
.42	Pregnandiol	19
.43	17-Ketosteroide	19

Seite

.44 Zu den Kurven 20
.45 Zur Basaltemperatur 20
.50 Zusammenfassung der Ergebnisse 20
.51 Gonadotropine 20
.52 Pregnandiol 22
.53 17-Ketosteroide 23
.54 Verträglichkeit 23
2.00 Untersuchungen an oligo- und amenorrhoischen Frauen 24
.10 Vorbemerkung 24
.20 Anamnesen und Ergebnisse 25
.30 Zusammenfassung der Ergebnisse 33
.31 Gonadotropine 33
.32 17-Ketosteroide 34
.33 Basaltemperatur 34
.34 Blutungen 34
.35 Verträglichkeit und thermogenetischer Effekt . 36
.36 Schwangerschaft 36

IV. Diskussion 36

1.00 Zur Dosierung von Ro 4-8347 36
2.00 Gonadotropine 37
3.00 Pregnandiol 40
4.00 17-Ketosteroide 41
5.00 Basaltemperatur und thermogenetischer Effekt . 42
6.00 Verträglichkeit 42
7.00 Beantwortung der speziellen Fragestellung . . 43

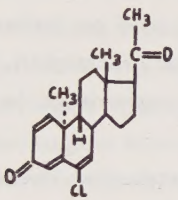
V. Zusammenfassung 44

VI. Literaturverzeichnis 47

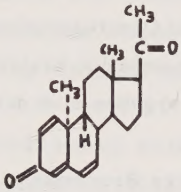
I EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

1.00 Das Retrosteroid Ro 4-8347 [1)]

Das in dieser Arbeit auf seine klinische Wirkung untersuchte Präparat Ro 4-8374 ist ein Retrosteroid, das chemisch dem im Handel befindlichen Dydrogesteron ($\Delta^{4,6}$-(9β, 10α)-Pregnandien-3-20-dion = 6-Dehydroprogesteron) nahe verwandt ist.



Ro 4-8347



Dydrogesteron

Abbildung 1: Chemische Konstitution von Ro 4-8347 und Dydrogesteron

.10 Tierexperimentelle Untersuchungen: Den ersten klinischen Prüfungen gingen ausgedehnte tierexperimentelle Untersuchungen voraus, deren Ergebnisse zeigten, daß das Präparat eine progestative Wirkung besitzt. (Angaben unter 1.10 bis 1.20 über tierexperimentelle und erste klinische Ergebnisse aus (50), (51)).

Mit Oestrogenen vorbehandelte juvenile weibliche Kaninchen zeigten nach peroraler und subcutaner Gabe von Ro 4-8347 eine im Vergleich zu Dydrogesteron erhöhte Proliferation des Endometriums (Clauberg Test).

Progestative Substanzen haben eine geringere uterotrophe Wirkung als oestrogene. Werden beide gleichzeitig appliziert, so wird die oestrogen-bedingte Gewichtszunahme des Uterus gehemmt. Diese Wirkung bezeichnet man als antiuterotroph.
Ro 4-8347 zeigte nach Untersuchungen an juvenilen weiblichen

1) in der Folge als Ro 4-8347 bezeichnet

Mäusen eine im Vergleich zu Oestradiolmonobenzoat mäßige uterotrophe Wirkung, hemmte jedoch dessen uterotrophe Wirkung stark.

Der Carboanhydrasegehalt des Endometriums wird durch progestative Substanzen gesteigert. Im Vergleich zu Dydrogesteron bewirkte Ro 4-8437 bei Clauberg-behandelten Kaninchen einen vermehrten Carboanhydrasegehalt in der Uterusschleimhaut.

Ro 4-8347 verhinderte, wie alle Progestativa, bei erwachsenen weiblichen Ratten den Oestrus.

Ohne Oestrogengaben erhielt Ro 4-8347 bei Ratten, die vor der Placentation kastriert wurden, die Trächtigkeit. Erwartungsgemäß ergaben sich dabei durch Oestrogenmangel bedingte Mißbildungen.

Einige Progestativa führen bei bestehender Pseudoschwangerschaft und nach Verletzung des Uterus zur Hypertrophie des Endometrialstromas (Deziduom Test). Ro 4-8347 bewirkte eine starke Deziduombildung.

Eine Maskulinisierung weiblicher Foeten, die unter Umständen durch natürliches Progesteron hervorgerufen werden kann, trat nach Ro 4-8347-Gaben nicht auf.

Im Vaginal-Öffnungstest - Oestrogene bewirken bei nicht geschlechtsreifen weiblichen Ratten eine frühzeitige Öffnung der die Vagina verschließende Membran - entfaltete Ro 4-8347 weder eine oestrogene noch eine antioestrogene Wirkung.

Bei juvenilen intakten und kastrierten männlichen Ratten zeigte Ro 4-8347 weder einen androgenen noch einen myotrophen Effekt.

In Verträglichkeits- und Toleranzversuchen, die über mehrere Wochen an Ratten durchgeführt wurden, konnten keine toxischen Wirkungen von Ro 4-8347 nachgewiesen werden. Fetotoxische Erscheinungen traten ebenfalls nicht auf.

. 20 Erste klinische Untersuchungen: Erste klinische Untersuchungsergebnisse zeigten, daß Ro 4-8347 bei vorheriger und/oder gleichzeitiger Gabe von Oestrogenen in einer Dosis von 40 ± 20 mg pro

Zyklus das Endometrium sekretorisch umzuwandeln vermag. Bei alleiniger Ro 4-8347-Gabe bildet sich bei Frauen mit Ovarien zum Teil auch bei vorherigem atrophischem Vaginalzellbild häufig ein "gemischt" umgewandeltes Endometrium. Neben Feldern mit typischer Sekretion lagen leicht hyperplastische Bezirke mit kleinen, oberflächlich polypösen Proliferationen. Kein Proliferationseffekt zeigte sich am Endometrium kastrierter Frauen bei alleiniger Ro 4-8347-Gabe.

Die sich an die Behandlung - auch mit Ro 4-8347 allein - anschließende Blutung begann 2 - 5 Tage nach dem Absetzen des Präparates. Sie verlief menstruationsartig mit einer durchschnittlichen Dauer von 3 - 5 Tagen.

Eine thermogene Wirkung von Ro 4-8347 konnte weder bei Frauen ohne Ovarien noch bei amenorrhoischen Frauen beobachtet werden. Ein Anstieg der Pregnandiolausscheidung bei kastrierten Frauen nach der Einnahme von Ro 4-8347 trat nicht auf.

Eine hemmende Wirkung auf die Ovulation wurde bei einer Einnahmedauer von 10 (erste Zyklushälfte) bis 21 Tagen pro Zyklus und täglichen Dosen bis zu 10 mg nicht nachgewiesen. Jedoch scheinen tägliche Mengen von mehr als 15 mg die Ovulation zu beeinträchtigen.

Es zeigte sich im Gegenteil, daß die alleinige Ro 4-8347-Gabe bei 122 Frauen mit endokrinbedingter Oligo-, Amenorrhoe oder Anovulation in ungefähr 50 % der Fälle zu einem Anstieg des Eosinophilen- oder Karyopyknoseindex, der Basaltemperatur, der Gonadotropin- und/oder Pregnandiolausscheidung im Urin führte. In dem bisher behandelten Patientinnenkollektiv waren 21 Schwangerschaften zu verzeichnen. Die tägliche Dosis betrug 2 - 10 mg, meist 4 - 8 mg, die Behandlungsdauer pro Zyklus 3 - 15 Tage.

Bei juvenilen und prämenopausalen Meno-, Metrorrhagien führten 4 - 12 mg Ro 4-8347/die im allgemeinen nach 2 - 3 Behandlungstagen zu einem Blutungsstillstand. Die Therapie wurde

über 10 - 14 Tage fortgeführt. 2 - 4 Tage nach Einnahme der letzten Tablette erfolgte eine periodenähnliche Blutung. In einer Dosierung von 2 - 4 mg/die vom 5. bis 24. Zyklustag konnten dysmenorrhoische Beschwerden spätestens nach 2 - 3 Behandlungen deutlich gebessert oder beseitigt werden.

Der Fruktosegehalt im Ejakulat stieg unter der Einnahme von 4 mg Ro 4-8347/die bei vorher erniedrigten Werten der Initial-Fruktose nach 4 - 5tägiger Behandlung zum Teil um das Doppelte bis Dreifache an. Die Spermiogenese konnte bei vorheriger Hypo- und Oligospermie nicht beeinflußt werden.

Bisher wurde das Präparat bis zu täglichen Dosen von 120 mg und bei einer teilweisen Gabe bis zu 5 Monaten gut vertragen.

2.00 Spezielle Fragestellung

Zu Beginn dieser Arbeit lagen klinische Erfahrungen von zwei voneinander unabhängigen Untersuchungen an insgesamt 10 Patientinnen, davon 2 mit Oligomenorrhoe, 7 mit sekundärer Amenorrhoe verschiedenster Ätiologie und eine mit monophasischem Zyklus vor, die auf die Prüfung der progestativen Eigenschaften und die Verträglichkeit des Präparates Ro 4-8347 gerichtet waren (50).

Um die Wirkung des Präparates und die Dosismenge genauer kennenzulernen, erschien es zunächst wichtig, den Effekt, den die Behandlung mit Ro 4-8347 auf gesunde Frauen hat, zu untersuchen. Aus mehreren Gründen wurden im Klimakterium befindliche Frauen (Untersuchungsgruppe I) als Probandinnen gewählt. Im Vordergrund der Untersuchungen stand - neben der Pregnandiol- und 17-Ketosteroidbestimmung, der Beobachtung des thermogenetischen Effektes, der Verträglichkeit und der optimalen Dosierung - die Bestimmung der Gonadotropinausscheidung im Urin, die im Klimakterium, verglichen mit den Werten im geschlechtsreifen Alter ca. 10 mal höher ist (36). Obwohl beträchtliche Schwankungen in der täglichen Ausscheidung auftreten können (4), erschien die Kontrolle einer eventuellen Gonadotropin-

ausscheidungsbeeinflussung durch Ro 4-8347, da zyklusbedingte Gonadotropinausscheidungsschwankungen fehlen, einfacher als bei der geschlechtsreifen Frau.

Sechzig Prozent aller Frauen im Klimakterium leiden vorübergehend an manigfaltigen vegetativen und psychischen Störungen (65). Frauen, die sich im Klimakterium befinden, ein Stadium, das im Zeichen einer Dysregulation im Zwischenhirn steht (65), würden erwartungsgemäß in bezug auf die Verträglichkeit von Ro 4-8347 empfindlicher reagieren als gesunde, geschlechtsreife Frauen.

Da bei allen zuvorbehandelten Patientinnen mensesartige Blutungen ausgelöst werden konnten (51), erschien es wichtig, diese Wirkung an gesunden Frauen zu überprüfen, die sich in der Postmenopause befinden.

Sofern es die Ergebnisse gestatteten, sollte anschließend in streng indizierten Fällen die Wirkung des Präparates Ro 4-8347 auf oligo-, amenorrhoische und anovulatorische Patientinnen (Untersuchungsgruppe II) untersucht werden.

II MATERIAL UND METHODEN

1.00 Vorbemerkungen

.10 Gonadotropine: Die Wechselwirkung zwischen Gonaden, Hypophyse und Hypothalamus ist durch die Arbeiten von Hohlweg (32), Harris (29), Westman und Jacobsohn (70) erstmalig bewiesen worden. Besonderes Interesse fand in jüngster Zeit die Steuerung der Gonadotropinproduktion und Gonadotropinausschüttung durch übergeordnete Zentren im Zwischenhirn. So konnten im Hypothalamus von Tieren FSH- und LH-Freisetzungsfaktoren sowie ein LTH-Hemmfaktor nachgewiesen werden (13), (14), (57), (56). Auch im menschlichen Hypothalamus wurde eine Gonadotropinfreisetzungsaktivität gefunden (9).

Die Gonadotropinkonzentration im Harn der Frau weist, wie Abbildung 2 erkennen läßt, von der Kindheit bis zum Greisenalter große Schwankungen auf.

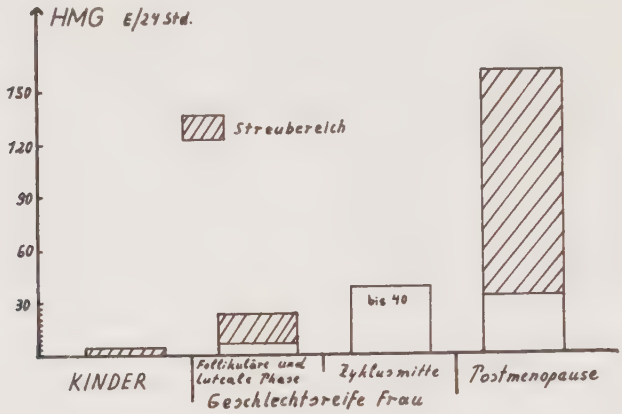


Abbildung 2: Totale Gonadotropinaktivität im Urin während der einzelnen Lebensabschnitte der Frau. Modifiziert aus (6).

Nur 10 % des im Plasma befindlichen Menopausengonadotropins (HMG) werden im Harn ausgeschieden (5). Wenn es auch noch keinen direkten Beweis für die Identität von den im Körper produzierten Gonadotropinen mit denjenigen, die im Harn ausgeschieden werden, gibt (5), so gilt im allgemeinen die Gonadotropinkonzentration im Urin doch als guter Parameter für die Gonadotropinproduktion (6). Eine entscheidende Bedeutung hat die Genauigkeit der Gonadotropinbestimmungsmethode.

Pregnandiol: Gibt man Menschen große Mengen Progesteron, so kann Pregnandiol in Urin, Blut, Faeces (41), (63) und in der Galle (54) nachgewiesen werden. Es gilt als gesichert (11), daß das Progesteron in der Leber zu Pregnandiol reduziert und dann gekoppelt mit Glucuronsäure (66) und mit Schwefelsäure (58) ausgeschieden wird.

Untersuchungen mit markiertem Progesteron haben jedoch ergeben, daß bei einer Gesamtradioaktivität von 50 % der Ausgangsradioaktivität die im Harn wiedergefunden wurde, nur 10 - 15 % auf Pregnandiol entfallen (15), (18), (20). Progesteron wird also nicht ausschließlich in Form von Pregnandiol ausgeschieden. Mit allen Pregnandiolnachweismethoden werden, abgesehen von Pregnandiol auch andere Pregnanverbindungen (Metabolite des Progesterons und verschiedener Nebennierenrindensteroide) erfaßt. Bei der nichtgraviden Frau überwiegt aber der Pregnandiolanteil (27). Die Progesteronbildung durch die Nebennierenrinde, die durch den menstruellen Zyklus nicht beeinflußt wird, bewirkt eine Pregnandiolausscheidung im Urin von ungefähr 1 mg/die (40). Die Pregnandiolausscheidung erfolgt in den einzelnen Lebensabschnitten der Frau in unterschiedlichen Mengen. (Siehe Abbildung 3)

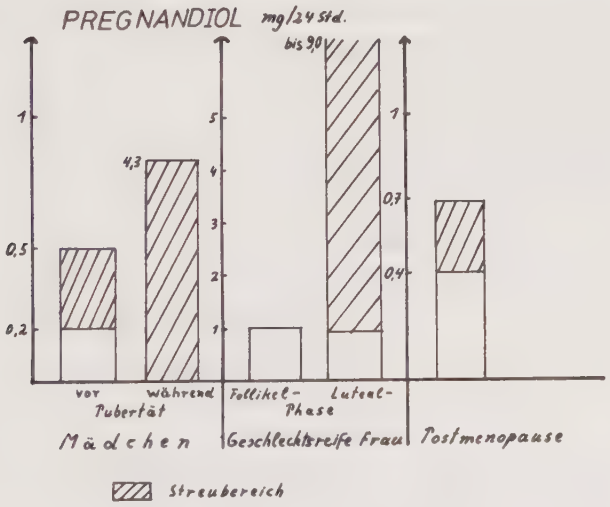


Abbildung 3: Pregnandiolausscheidung im Urin während der einzelnen Lebensabschnitte der Frau. Alle Angaben aus (43).

.30 17-Ketosteroide: Die Funktion der Nebennierenrinde, vor allem aber deren Cortisolproduktion, ist an die des Hypophysenvorderlappens geknüpft, der durch die Sekretion von adrenocorticotropen Hormon (ACTH) auf die Nebennierenrinde einwirkt. Die Ausschüttungsmenge der von der Nebenniere gebildeten Hormone bestimmt im Sinne eines Rückkopplungsmechanismus' die Aktivität der von dem Hypothalamus mit einem Corticotropinfreisetzungsfaktor (CRF) gesteuerten, ACTH-bildenden basophilen Zellen des Hypophysenvorderlappens (33). Es steht fest, daß mit einer ACTH-Zunahme eine vermehrte Bildung von 17-Ketosteroiden durch die Nebenniere einhergeht (22).

Die mit dem Urin ausgeschiedenen 17-Ketosteroide bestehen aus einer phenolischen, einer sauren und einer neutralen Gruppe (28). Die Untersuchungen galten der neutralen Fraktion.

Charakteristisch für alle 17-Ketosteroide ist die Keto-Gruppe am C-17 Atom des Sterangerüstes. Die neutrale Gruppe setzt sich aus einer komplexen Mischung von Steroidhormonabkömmlingen zusammen, die im wesentlichen von den Androgenen der Testes und der Nebennierenrinde abstammen. Ungefähr 90 % der 17-Ketosteroide werden von folgenden Verbindungen gebildet (49):

Dehydroepiandrosteron
Androsteron
Aetiocholanolon
11-β-Hydroxyandrosteron
11-Ketoandrosteron
11-β-Hydroxyaetiocholanolon
11-Ketocholanolon

Dehydroepiandrosteron scheint ein Vorläufer der Nebennierenrindenandrogene zu sein. Es wird zum großen Teil unverändert ausgeschieden, zum Teil aber - wie auch Testosteron und 4-Androsten-3,17-dion - ebenfalls ein Nebennierenandrogen - in Androsteron und Aetiocholanolon umgewandelt (26), (69). Die in 11-Stellung oxydierten Androsteron- und Aetiocholanolonderivate werden von den anderen Androgenen der Nebennieren abgeleitet sowie von den Glucocorticoiden und ihren Meteaboliten (26).

Während ein Teil der Autoren annimmt, daß bei der Frau nur die Nebennieren als Bildungsort für die 17-Ketosteroide infragekommen (28), (53), (11), (26), sind andere der Auffassung, daß auch das Ovar an der Produktion von 17-Ketosteroiden beteiligt ist (52), (65). Neuere Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß das normale menschliche Ovar Testosteron und 4-Androsten-3,17-dion (38), (60) sowie Androsteron, Dehydroepiandrosteron und Epiandrosteron (21) erzeugt.

Aufgrund der unterschiedlichen Herkunft der 17-Ketosteroide ist deren Bewertung schwierig. Immerhin gibt aber die längerfristige Beobachtung ihrer Ausscheidung einen Anhalt für die Androgenkonzentration im Urin (19).

Die 17-Ketosteroidausscheidung ist unter Progesteronanwendung gelegentlich erhöht, auch bei einigen Frauen mit Amenorrhoe (Literatur bei (24)). Die meisten Untersuchungen bei Frauen, die einer Progesterontherapie ausgesetzt waren, ergaben jedoch keine Veränderung der 17-Ketosteroidausscheidung. Erst längere Behandlung scheint die Sekretionsrate der 17-Ketosteroide herabzusetzen (24).

Die Ausscheidung der 17-Ketosteroide erfolgt auf dem Wege einer Veresterung mit Schwefelsäure und in Form von Glucuroniden (44), (59), (34). Die mittlere Ausscheidungsrate während der einzelnen Lebensabschnitte der Frau zeigt Abbildung 4.

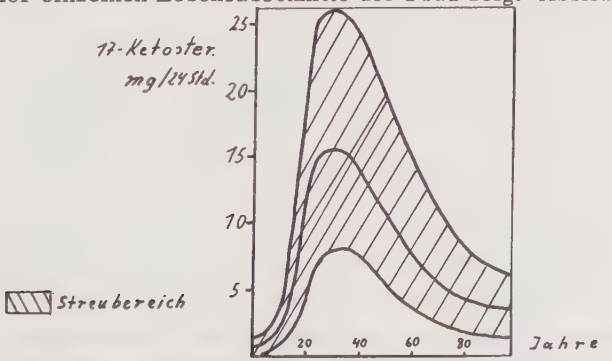


Abbildung 4: 17-Ketosteroidausscheidung im Urin während der einzelnen Lebensabschnitte der Frau. Alle Angaben aus (33).

.40 Thermogenetischer Effekt. Basaltemperatur: An dem thermogenetischen Effekt des natürlichen Progesterons wird nicht mehr gezweifelt, seitdem auch bei der Kastratin eine progesteronbedingte Temperaturerhöhung gefunden wurde (37). Eine Übersicht der thermogenetischen Wirkung der Gestagene ist bei (24) zu finden.

Die Messung der Basaltemperatur zur Bestimmung des Ovulationszeitpunktes geht nach Knaus (42) auf Untersuchungen von van de Velde und Hillebrand zurück. Der Anstieg der Basaltemperatur beträgt bei einem normalen biphasischen ovulatorischen Zyklus etwa 0,4 - 0,6 ^{o} C (7). Er setzt durchschnittlich zwei Tage nach dem Follikelsprung ein (7) und wird als Folge der direkten Einwirkung der vermehrt gebildeten Gestagene, vornehmlich des Progesterons (27), auf das Temperaturzentrum im Zwischenhirn interpretiert (65). Synthetische Gestagene haben ebenfalls eine mehr oder weniger starke thermogenetische Wirkung, die bei Therapiebeginn oder zu einem späteren Zeitpunkt einsetzen kann (falschpositiver Basaltemperaturanstieg) (27).

2.00 Zur Dosierung des Präparates Ro 4-8347

.10 Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium): Bei der Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium) wurde das Präparat in drei aufeinanderfolgenden Versuchsreihen in folgenden Dosierungen und über folgende Zeit gegeben:

	Serie I 2 mg/die	Serie II 4 mg/die	Serie III 6 mg/die
Therapiedauer	30 Tage	14 Tage	14 Tage

.20 Untersuchungsgruppe II (Patientinnen mit Zyklusstörungen): In der Untersuchungsgruppe II (Patientinnen mit Zyklusstörungen) erfolgte die Therapie mit Ro 4-8347 in einer Dosierung von 4 mg/die (im Durchschnitt 13 Tage lang) oder 6 mg/die (im Durchschnitt 6 Tage lang). Einmal wurden 8 mg/die über 3 Tage gegeben.

3.00 Zeitpunkt der Urinuntersuchungen

Jeweils an den drei aufeinanderfolgenden Tagen vor dem Beginn und nach der Ro 4-8347-Einnahme wurde aus dem 24-Stunden-Urin (gesammelt wurde von 8 bis 8 Uhr) die Gonadotropinaktivität, die Pregnandiol- und die 17-Ketosteroidmenge bestimmt. Während der Ro 4-8347-Einnahme wurde an jedem 3. Tag der 24-Stunden-Urin gesammelt und untersucht - beginnend am 3. Tag der Einnahme in Serie I, am 2. Tag in Serie II und in Serie III.

4.00 Gonadotropinbestimmung

.10 Untersuchungsmaterial: Bestimmt wurde die totale Gonadotropinaktivität im 24-Stunden-Urin, der bis zur Aufarbeitung gekühlt wurde.

.20 Gonadotropinextraktion: Die Gesamtgonadotropine wurden nach der von Albert (1) angegebenen Methode aus dem Urin extrahiert.

Nach Einstellung auf pH 4,6 mit Eisessig wurden dem mit einem Magnetrührer umgerührten Urin je Liter 20 g trockenes Kaolin (Fa. Riedel de Haen, feinst) zugegeben. Nach einer Minute wurde der Urin in ein Druckfilter gegeben und mit Stickstoff unter 5 atü gefiltert. Das Eluat wurde verworfen, der Rückstand mit 1 Liter Wasser (pH 4,6) noch einmal unter 5 atü durchgespült. Nachdem auch dieses Eluat verworfen war, wurde unter einem Druck von 20 atü die Gonadotropine mit 100 ml einer Ammoniak-Lösung (5 Teile H_2O und 1 Teil 25 %ige NH_3-Lösung) aus dem Kaolin ausgewaschen. Dieser Vorgang wurde mit dem gefilterten Eluat einmal wiederholt. Anschließend wurde mit 50 ml Aqua destillata bei 20 atü noch einmal durchgespült und dieses Eluat der NH_3-Lösung zugegeben. Zur Fällung der Gonadotropine wurde nach der Einstellung auf pH 5,5 (mit Eisessig) dem Eluat die 2fache Menge Aceton reinst zugegeben. Nach einer 1stündigen Kühlung wurde es 10 Minuten bei 3000 U/min. zentrifugiert. Das Aceton wurde abgegossen und der Rückstand über P_2O_5 im Exsiccator getrocknet, anschließend pulverisiert und bis zum biologischen Test kühl aufbewahrt.

Die Injektionslösung entstand durch Lösung des Pulvers in 12 ml physiologischer Kochsalzlösung und anschließender Herstellung einer verdünnten Reihe im Verhältnis 1:1, 1:4 und 1:16 (von 12 ml Lösung wurden 3 ml zu 9 ml physiologischer Kochsalzlösung, von dieser wieder 3 ml zu 9 ml physiologischer Kochsalzlösung gegeben).

.30 Biologische Bestimmungsmethode: Die Gonadotropinaktivität wurde entsprechend der Mäuse-Uterusgewichtsmethode bestimmt (39). Als Standardpräparat wurde benutzt: 2nd IRP-HMG. Als Versuchstiere wurden infantile weibliche Mäuse des Zuchtstammes MNRI der

Firma S. Ivanovas, Kißlegg/Allgäu, mit einem Gewicht von 8 - 10 g verwendet. 12 Tiere wurden für die Auswertung eines Gonadotropinextraktes benutzt, wobei jeder Verdünnung 4 Tiere zugeordnet wurden. Jeder Maus wurde im Laufe von 3 Tagen zum Zeitpunkt von 0, 12, 24 und 48 Stunden 0,5 ccm der Gonadotropinlösung injiziert. Nach 72 Stunden wurden die Tiere mit Dichlormethan (Fa. Merck Nr. 6049) getötet und der sofort herauspräparierte Uterus mit einer Torsionswaage (Meßgenauigkeit 0,5 mg) gewogen.

5.00 Pregnandiolbestimmung

.10 Untersuchungsmaterial: Zur Pregnandiolbestimmung wurden 20 ml des 24-Stunden-Urins verwendet.

.20 Pregnandioldarstellung: Die Pregnandioldarstellung erfolgte nach der von W a l d i (68) angegebenen Methode, die in einigen Details modifiziert wurde.

Der Urin wurde durch ein Selecta 595-Filter (Fa. Carl Schleicher & Schüll) filtriert, anschließend mit verdünntem Eisessig auf pH 4,6 eingestellt und mit 0,5 ml Glucoronidase/Aryl-Sulfatase (GRD/ARS 15427 Fa. Boehringer, Mannheim) entsprechend der von G o l d f i n e und C o h e n (25) angegebenen Methode versetzt und 24 Stunden bei 37°C im Brutschrank aufbewahrt. Mit Zyclohexan (Fa. Merck Nr. 8232) - je 25 ml - wurde der Urin mit 100 ml Schütteltrichter gereinigt. Falls nötig (Schaumbildung), wurde so lange mit 20 ml 0,1 n NaOH ausgeschüttelt, bis der Schaum im Schütteltrichter verschwunden war. Anschließend wurde mit je 30 ml Aqua destillata nachgewaschen. Der so gereinigte Zyclohexanextrakt wurde im Wasserbad bei Vakuumverdampfung eingeengt, anschließend in 2,5 ccm Chloroform (Fa. Merck Nr. 2445) gelöst, das nach Umfüllung in ein Aufbewahrungsröhrchen auf einer Heizplatte ebenfalls verdampft wurde.

Zur Dünnschichtchromatographie wurden MN-Polygram Sil S-HR-Blätter (Format 20 x 20 cm) der Firma Macherey-Nagel & Co., Düren, verwendet. Zur Pregnandiolbestimmung erwies sich ein geteiltes Blatt (10 cm) als ausreichend.

Zur Auftragung wurde der Rückstand in genau 0,1 ml Chloroform gelöst und in eine Mikrometerspritze (Fa. Desaga, Heidelberg) aufgezogen. 0,01 ml jedes Extraktes - das entspricht 50 Teilstrichen auf der Mikrometerschraube - wurden langsam im Abstand von etwa 2 cm aufgetragen. Zum Auftragen wurde das Gerät der Firma Desaga, Heidelberg, verwendet. 0,1 % Pregnandiolstandard (Vergleichslösung zum Schwangerschafts- und Zyklustest nach W a l d i, Fa. Merck Nr. 9282) wurde in aufsteigender Reihe (etwa 0,5 - 10) zum Vergleich aufgetragen, in eine Entwicklungskammer (Extra Eastman Chromagram Chamber Plate Sets and Solvent Traugh - Distillation Products Industries, Rochester N.Y. 14603) gebracht, die ein Gemisch von Aceton und Chloroform (1 : 9) enthielt, das 40 - 50 Minuten Laufzeit benötigte. Das getrocknete Blatt wurde gleichmäßig mit Molybdatophosphorsäure (Sprühreagenz 3,5 % für die Chromatographie Fa. Merck Nr. 531)

eingesprüht und nach Trocknung im Heißluftschrank bei 100° C unter Beobachtung etwa 3 Minuten entwickelt.

Die Auswertung erfolgte auf Grund der Tatsache, daß die Standardpregnandiolflecken in einer Höhe mit denen der aufgetragenen Extrakte liegen; sie wurde sofort nach der Entwicklung und bei Tageslicht durchgeführt. Die daraus resultierenden Werte wurden auf den 24-Stunden-Urin umgerechnet.

6.00 Bestimmung der neutralen 17-Ketosteroide

.10 Untersuchungsmaterial: Zur Bestimmung der neutralen 17-Ketosteroide wurden 10 ml des 24-Stunden-Urins verwendet.

.20 Ausführung: Die Methode nach Zimmermann (71), (72), (73) diente zur Bestimmung der 17-Ketosteroide. Der Harn wurde in kleine Blutzuckergläser gegeben und mit 3 ml einer 27 %igen HCl 20 Minuten in einem kochenden Wasserbad hydrolisiert und anschliessend sofort unter Leitungswasser abgekühlt. In einem 100 ml Schütteltrichter wurde aus dem Hydrolisat mit 40 ml Aether unter kräftigem Schütteln extrahiert. Nach Abscheiden des überstehenden Aethers wurde die wässrige Phase verworfen und der Extrakt einmal mit 20 ml 10 %iger NaOH und dreimal mit je 20 ml Aqua destillata (bis zur Neutralisation) geschüttelt.

Danach wurde der gereinigte Aetherextrakt in einem 50 ml Kolben im Wasserbad bei ca. 30° C unter Vakuum eingedampft. Der Extrakt wurde in 1 ml reinem Alkohol, 1 ml Dinitrobenzol und 1 ml 5n - KOH gelöst. Der mit einem Schliffstopfen versehene Kolben wurde bei etwa 27° C 80 Minuten im Dunkeln aufbewahrt.

In der Zwischenzeit wurde eine alkoholische 0,125 Vol. %-KOH-Lösung hergestellt: 0,025 ml der 50 %igen KOH wurden in einem 10 ml Meßkolben mit absolutem Alkohol entsprechend der Berechnung verdünnt.

Anschließend wurden zu der Lösung in den Kolben 2 ml Benzol zugegeben und durch kräftiges Schütteln der rotgefärbte Anteil extrahiert. Nach der Trennung der beiden Schichten wurde die überstehende rote, trübe Benzollösung in einen 10 ml Meßkolben, in dem sich 2 ml der alkoholischen KOH befanden, filtriert. Der gelbe Rückstand wurde noch zweimal mit je 2 ml Benzol extrahiert und der Meßkolben mit Benzol bis zu einer errechneten Marke aufgefüllt.

Die gut geschüttelte violette Lösung wurde gegen ein Gemisch von 2 ml Alkohol und 8 ml Benzol photometriert (Zeiss PM QII und M 4 QII, Filter 546 m, Küvetten 2 cm); von dem Meßwert wurde ein Reagenzienleerwert (1 ml Alkohol, 1 ml Dinitrobenzol, 1 ml KOH) abgezogen. Zur Bestimmung der Standardextinktion wurden 10 mg Dehydroepiandrosteron in 10 ml gereinigtem Alkohol gelöst. Von dieser Lösung wurden 0,1 ml (= 100 γ DHA) in ein Kölbchen gegeben, das zuvor mit 0,9 ml reinem Alkohol beschickt worden war. Dazu kamen 1 ml Dinitrobenzol und 1 ml 5n KOH. Das Gemisch wurde 80 Minuten bei 27° C im Dunkeln aufbewahrt und dann, wie oben beschrieben, weiterbehandelt. Die Extinktion gehorcht dem Lambert-Beerschen Gesetz:

$$E = \varepsilon \times c \times d$$

wobei: E = Extinktion
= auf Briggsschen Logarithmus umgerechneter Proportionalitätsfaktor
c = Konzentration (mol/l)
d = Schichtdicke (cm)

Für die 17-Ketosteroidmenge im 24-Stunden-Urin ergibt sich:

$$\text{17-Keto. (mg/24 h)} = \frac{\text{Ext. Urin x ml Urin x DHA-Stand } (\gamma)}{\text{Ext. Stand. x 1000 (Umrechnungsfaktor)}}$$

7.00 Basaltemperaturmessung

Die Bestimmung der Basaltemperatur erfolgte nach der Empfehlung von B i c k e n b a c h und D ö r i n g (7): nach einer Schlafdauer von mindestens 6 Stunden wurde morgens vor dem Aufstehen und im nüchternen Zustand die Temperatur mit einem normalen Fieberthermometer rektal gemessen.

8.00 Verträglichkeitsüberwachung

Bei der Kontrolle der Verträglichkeit des Präparates standen naturgemäß subjektive Angaben der Patientinnen im Vordergrund.

9.00 Zur statistischen Auswertung

Nach der vereinfachten Methode von G a d d u m (10) wurde die Bestimmung der Gonadotropinaktivität aus dem Uterusgewicht durchgeführt, wobei der Berechnung die absoluten Organgewichte zugrundegelegt wurden.

Die statistischen Berechnungen wurden folgendermaßen durchgeführt:

Standardabweichung der Einzelwerte: $s = \sqrt{\frac{\varepsilon (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$

Mittlerer Fehler des Mittelwertes: $s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{s^2}{n}}$

x_i = Einzelwert der Gonadotropin-, Pregnandiol-, 17-Ketosteroidausscheidung

$\bar{x}$ = arithmetrisches Mittel der Einzelwerte

$\varepsilon (x_i - \bar{x})$ = Summe der Differenzen der Einzelwerte zum Mittelwert

n = Anzahl der Einzelwerte

Zum Vergleich der Mittelwerte von zwei Versuchsgruppen A und B wurde berechnet:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_d} \qquad s_d = \sqrt{\frac{s_1 + s_2}{n_1 + n_2 - 2} \cdot \frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}}$$

Freiheitsgrad: FG = $N_1 + N_2 - 2$ Formeln aus (23)

Als Maß für die Signifikanz des Unterschiedes von Mittelwerten wurde P entsprechend dem errechneten t-Wert und dem Freiheitsgrad aus der t-Tabelle (17) entnommen.

Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren: Bei den Untersuchungen an Frauen im Klimakterium (Untersuchungsgruppe I) ergaben sich entsprechend der unterschiedlichen Dosierung (2 mg, 4 mg, 6 mg) drei Untersuchungsreihen, die aus je einer Gonadotropin-, Pregnandiol-, und 17-Ketosteroidbestimmung bestanden.

Der Mittelwert und der mittlere Fehler des Mittelwertes wurde getrennt für die Werte der Tage errechnet, an denen Ro 4-8347 eingenommen bzw. nicht eingenommen wurde. In den einzelnen Untersuchungsreihen wurden die Mittelwerte vor und nach Ro 4-8347-Therapie mit den Werten, die unter der Ro 4-8347-Behandlung gefunden wurden, verglichen. Der Vergleich der Mittelwerte der Dosisgruppen (für Gonadotropine, Pregnandiol, 17-Ketosteroide untereinander) erfolgte ebenfalls getrennt nach Ro 4-8347-Ein- bzw. Nichteinnahme.

Eine statistische Auswertung der Ergebnisse der Untersuchungsgruppe II (Oligo- und amenorrhoische Patientinnen) war wegen der geringen Zahl der Bestimmungen nur in wenigen Fällen möglich.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1.00 Untersuchungen an Frauen im Klimakterium

.10 Anamnesen: An dieser Untersuchungsgruppe waren 4 Frauen beteiligt.

1. Frau B., F. Alter: 47 Jahre

Allgemeine Anamnese: Keine Besonderheiten
Gynäkologische Anamnese: Menarche: 13 Jahre
Periode: regelmäßig; 27 - 28 Tage
Periodendauer: 4 Tage
Menopause: 46 Jahre

Beschwerden a) vor, b) während, c) nach der Therapie mit Ro 4-8347:

Zu a): Seit Menopausenbeginn Angstzustände und Depressionen. Deswegen zwei mal 4 Wochen krankgeschrieben. Ab und zu Schmierblutungen.

Zu b): Eine Blutung ("ganz normal, wie mit 18 Jahren")

Zu c): Keine Depressionen. Patientin fühlt sich wohl und "elastisch".

2. Frau G., F. Alter: 54 Jahre

Allgemeine Anamnese: Ausgeheilte Nieren-Tb.
Gynäkologische Anamnsese: Menarche: 13 Jahre
Periode: unregelmäßig; 8 - 10 Tage
Periodendauer: 2 - 3 Tage
Menopause: 48 Jahre

Beschwerden a) vor, b) während, c) nach der Therapie mit Ro 4-8347:

Zu a): keine zu b): keine zu c): keine

3. Frau K., C. Alter: 59 Jahre

Allgemeine Anamnese: Keine Besonderheiten
Gynäkologische Anamnese: Menarche: 16 Jahre
Periode: regelmäßig; 28 Tage
Periodendauer: 3 - 4 Tage
Menopause: 50 Jahre
Senkungsoperation: 49 Jahre

Beschwerden a) vor, b) während, c) nach der Therapie mit Ro 4-8347:

Zu a): keine zu b): keine zu c): keine

4. Frau L., H. Alter: 58 Jahre

Allgemeine Anamnese: Keine Besonderheiten
Gynäkologische Anamnese: Menarche: 14 Jahre
Periode: regelmäßig; 28 Tage
Periodendauer: 2 - 3 Tage
Menopause: 44 Jahre

Beschwerden a) vor, b) während, c) nach der Therapie mit Ro 4-8347:

Zu a): keine zu b): keine zu c): keine

.20 Ergebnisse der Dosisgruppe I (2 mg/die)

.21 Gonadotropine: Die Gonadotropinausscheidung war in der Versuchsreihe mit 2 mg Ro 4-8347/die bei den 4 Frauen so unterschiedlich, daß nicht endgültig geklärt werden konnte, ob unter der Ro 4-8347-Therapie Gonadotropin im Urin vermehrt oder vermindert ausgeschieden wird. Während bei 3 Frauen (Frau B., F.; Frau G., F und Frau L., H.) unter der Ro 4-8347-Einnahme die Gonadotropinausscheidungswerte niedriger bleiben als die Leerwerte, stiegen sie bei der vierten (Frau K., C.) im Vergleich zu den Ausgangswerten unter der Behandlung teilweise erheblich an. Insgesamt deuteten die Ergebnisse darauf hin, daß unter der Therapie mit 2 mg Ro 4-8347/die die Gonadotropine vermindert ausgeschieden werden. (Siehe Tabelle 1). Jedoch kam es am 12. Tag der Behandlung mit 2 mg Ro 4-8347/die zu einem einmaligen Anstieg der Gonadotropinausscheidung bis zur Höhe der Vorbeobachtungsperiode (siehe Abbildung 5).

.22 Pregnandiol: Während und nach der Behandlung mit Ro 4-8347 zeigte sich eine im Vergleich zur Vorbeobachtungsperiode geringfügige Erhöhung der Pregnandiolausscheidung. (Siehe Tabelle 1) Die Unterschiede der Mittelwerte untereinander sind nicht signifikant.

.23 17-Ketosteroide: Die 17-Ketosteroidausscheidung stieg unter der Ro 4-8347-Behandlung ebenfalls geringfügig an und war in der Nachbeobachtungsperiode im Vergleich zur Vorbeobachtungsperiode etwas erniedrigt. (Siehe Tabelle 2) Der Unterschied zwischen der 17-Ketosteroidausscheidung vor und während der Behandlung mit Ro 4-8347 ist nicht signifikant.

	I	II	III
Gonadotropine (I. E.)	45,03 ± 6,38	31,36 ± 3,64	31,13 ± 3,52
Pregnandiol (mg)	0,28 ± 0,05	0,37 ± 0,05	0,45 ± 0,03
17-Ketosteroide (mg)	7,09 ± 0,57	7,38 ± 0,31	6,83 ± 0,34

Tabelle 1: Erklärung siehe Text

Tabelle 1 zeigt die Gonadotropin-, Pregnandiol- und 17-Ketosteroidausscheidung vor (I), während (II) und nach (III) der Behandlung mit 2 mg Ro 4-8347 pro Tag. Angegeben sind die Mittelwerte der 4 Patientinnen.

.30 Ergebnisse der Dosisgruppe II (4 mg Ro 4-8347/die)

.31 Gonadotropine: Während der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die stieg die Gonadotropinausscheidung bei allen 4 Frauen zum Teil erheblich über den Mittelwert der Vorbeobachtungsperiode an. Charakteristischerweise lag der jeweils höchste Wert bei allen Frauen an dem Tag des zweiten Meßwertes unter der Ro 4-8347-Behandlung, d.h. nach 5tägiger Tabletteneinnahme (siehe Abbildung 6). Diese Ausscheidung am 5. Tag der Medikamenteinnahme ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % signifikant erhöht gegenüber der Ausscheidung der Vorbeobachtungsperiode. Im Vergleich zu dem in der Vorbeobachtungsperiode gefundenen mittleren Gonadotropinausscheidungswert verringerte sich die gonadotrope Aktivität in der Nachbeobachtungsperiode nur geringfügig. (Siehe Tabelle 2). Der Vergleich der Mittelwerte, die vor, während und nach der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347 gefunden wurden, ergibt in keinem Falle einen signifikanten Unterschied.

.32 Pregnandiol: Auch der mittlere Pregnandiolwert, der während der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die gefunden wurde, war gegenüber dem Ausscheidungsmittelwert der Ausgangsperiode geringfügig erhöht. (Siehe Tabelle 2). Ein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Pregnandiolausscheidungswerten vor, während und nach der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die besteht jedoch nicht.

.33 17-Ketosteroide: Die 17-Ketosteroide wurden unter der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die im Vergleich zu den Ausgangsmittelwerten ebenfalls etwas vermehrt im Urin gefunden. Ein Vergleich der Mittelwerte, die vor und während der Behandlung mit

4 mg Ro 4-8347/die gefunden wurden, zeigt keinen signifikanten Unterschied. Der Unterschied zwischen dem Mittelwert, der nach der Behandlung gefunden wurde, und den beiden anderen Mittelwerten (vor und während der Behandlung) ist nicht signifikant. (Siehe Tabelle 2).

	I	II	III
Gonadotropine (I. E.)	35,64 ± 8,43	49,82 ± 10,65	47,47 ± 7,34
Pregnandiol (mg)	0,74 ± 0,08	0,98 ± 0,15	0,72 ± 0,09
17-Ketosteroide (mg)	6,18 ± 0,07	7,34 ± 0,33	6,83 ± 0,41

Tabelle 2: Erklärung siehe Text.

Tabelle 2 zeigt die Gonadotropin-, Pregnandiol- und 17-Ketosteroidausscheidung vor (I), während (II) und nach (III) der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347 pro Tag. Angegeben sind die Mittelwerte der 4 Patientinnen.

.40 Ergebnisse der Dosisgruppe III (6 mg Ro 4-8347/die)

.41 Gonadotropine: Der Mittelwert der Gonadotropinausscheidung in der Vorbeobachtungsperiode lag im Vergleich zu den in der Dosisgruppe I und II gefundenen Werten auffallend niedrig. Unter der Ro 4-8347-Therapie ergab sich ein wesentlich stärkerer Anstieg der Gonadotropinausscheidung (siehe Tabelle 3), obwohl der mittlere Wert der Dosisgruppe II nicht erreicht wurde. Wiederum zeigte die Gonadotropinausscheidungskurve (siehe Abbildung 7) am 5. Tag der Medikamenteneinnahme einen einmaligen Gipfel. Diese Ausscheidung ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von weniger als 1 % signifikant gegenüber der Gonadotropinausscheidung der Vorbeobachtungsperiode erhöht.

.42 Pregnandiol: Die Pregnandiolausscheidung wird anscheinend durch die Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die nicht beeinflußt. (Siehe Tabelle 3). Zwischen den Mittelwerten besteht kein signifikanter Unterschied.

.43 17-Ketosteroide: Die 17-Ketosteroidausscheidung ist während der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die gegenüber der Vorbeobachtungs-

periode nicht signifikant erhöht. Die Ausscheidung in der Nachbeobachtungsperiode entspricht der der Vorbeobachtungsperiode. (Siehe Tabelle 3).

	I	II	III
Gonadotropine (I. E.)	10,78 ± 0,73	39,06 ± 8,35	31,62 ± 5,73
Pregnandiol (mg)	0,42 ± 0,12	0,46 ± 0,07	0,17 ± 0,12
17-Ketosteroide (mg)	6,71 ± 0,82	7,71 ± 1,07	6,90 ± 0,39

Tabelle 3: Erklärung siehe Text.

Tabelle 3 zeigt die Gonadotropin-, Pregnandiol- und 17-Ketosteroidausscheidung vor (I), während (II) und nach (III) der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347 pro Tag. Angegeben sind die Mittelwerte der 4 Patientinnen.

.44 Zu den Kurven: Die Abbildungen 5, 6 und 7 zeigen die Gonadotropin-, Pregnandiol- und 17-Ketosteroidausscheidung vor, während und nach der Behandlung mit 2 mg, 4 mg und 6 mg Ro 4-8347 pro Tag. Die Abbildungen 8, 9 und 10 zeigen die unterschiedlichen Gonadotropin-, Pregnandiol- und 17-Ketosteroidausscheidung in allen drei Serien (2, 4, 6 mg Ro 4-8347/die).

.45 Erstmalig wurde während der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die auch die Basaltemperatur an jedem Tag der Versuchsreihe bestimmt. Eine Basaltemperaturkurve war infolge falscher Eintragung nicht auswertbar. Die drei anderen zeigten einen monophasischen Verlauf.

.50 Zusammenfassung der Ergebnisse

.51 Gonadotropine: Der Gonadotropinausscheidung galt das Hauptinteresse der Untersuchungen bei klimakterischen Fraugen (Untersuchungsgruppe I). Die gonadotropie Aktivität im Urin war bei den einzelnen Frauen und während der Behandlung in den einzelnen Dosisgruppen sehr unterschiedlich:

Frau B., F.: In allen drei Dosisgruppen sank die Gonadotropinausscheidung während der Vorbeobachtungsperiode ab. Ein Anstieg der Gonadotropinausscheidung erfolgte nur geringfügig am 2. oder 3. Bestimmungstermin unter der Ro 4-8347-Be-

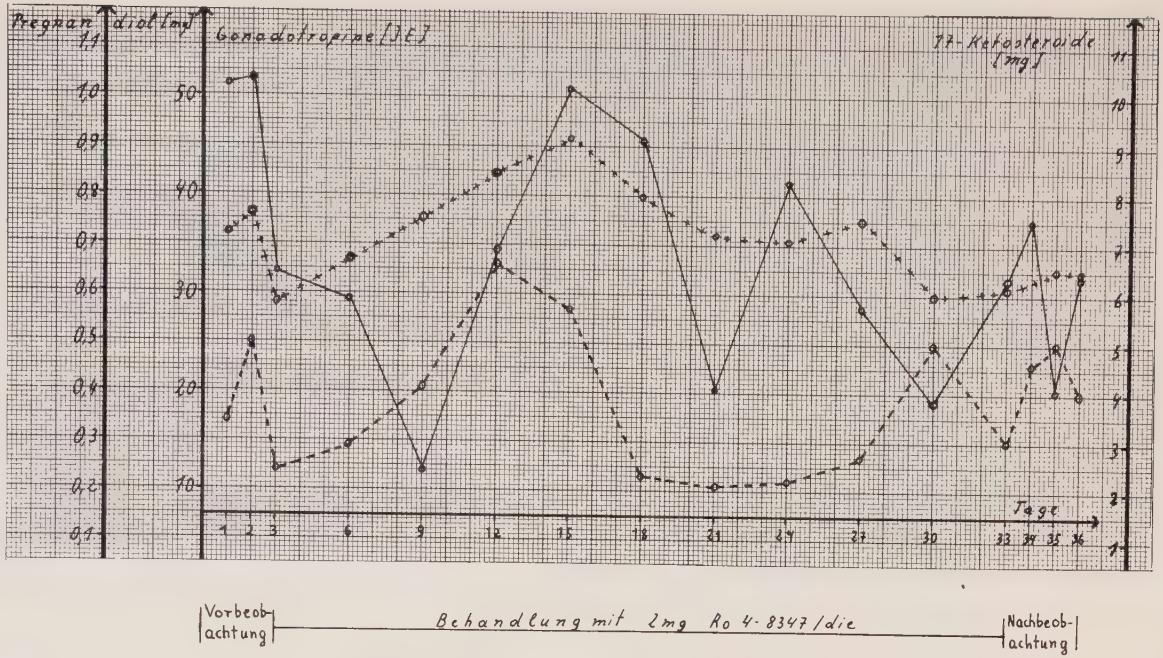


Abbildung 5: Gonadotropin- (——), Pregnandiol- (- - -) und 17-Ketosteroidausscheidung (+ + +) vor, während und nach der Behandlung mit 2 mg Ro 4-8347/die. Mittelwerte von 4 Frauen im Klimakterium.

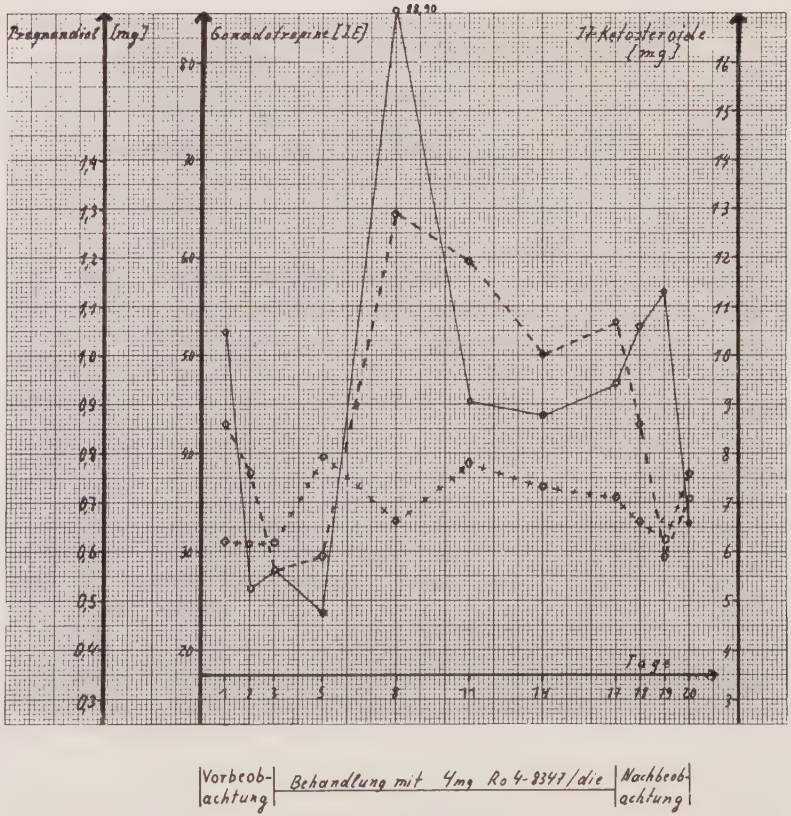


Abbildung 6: Gonadotropin- (——), Pregnandiol- (– – –) und 17-Ketosteroidausscheidung (+ + +) vor, während und nach der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die. Mittelwerte von 4 Frauen im Klimakterium.

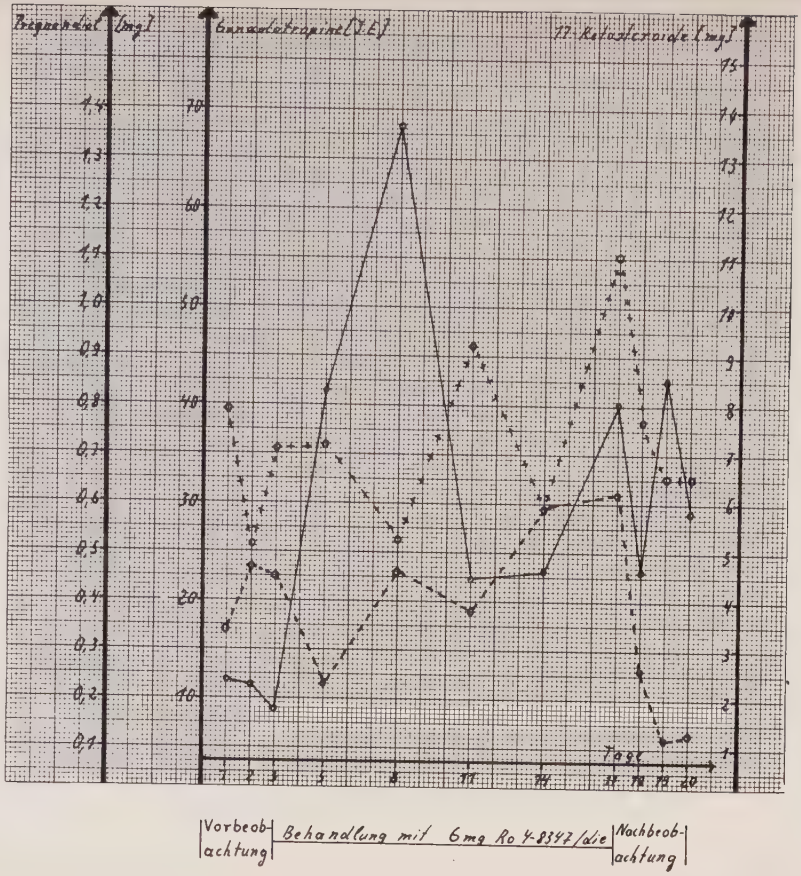


Abbildung 7: Gonadotropin- (——), Pregnandiol- (- - -) und 17-Ketosteroidausscheidung (+ + +) vor, während und nach der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die. Mittelwerte von 4 Frauen im Klimakterium.

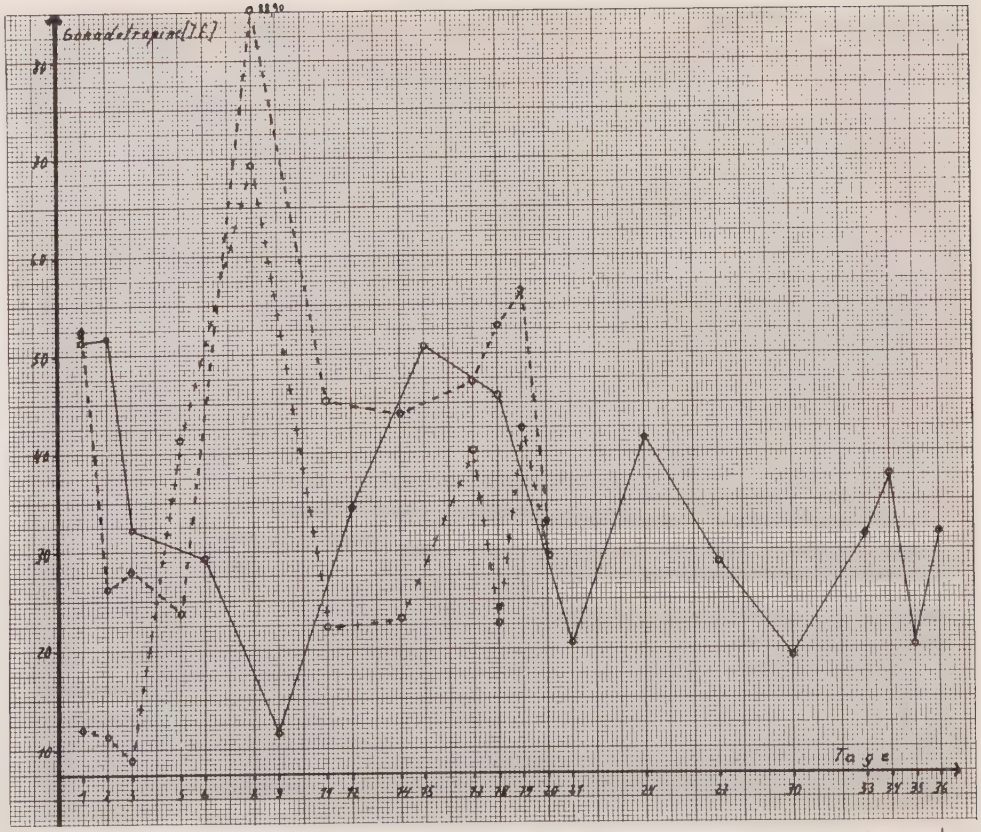


Abbildung 8: Vergleich der unterschiedlichen Gonadotropinausscheidung vor, während und nach der

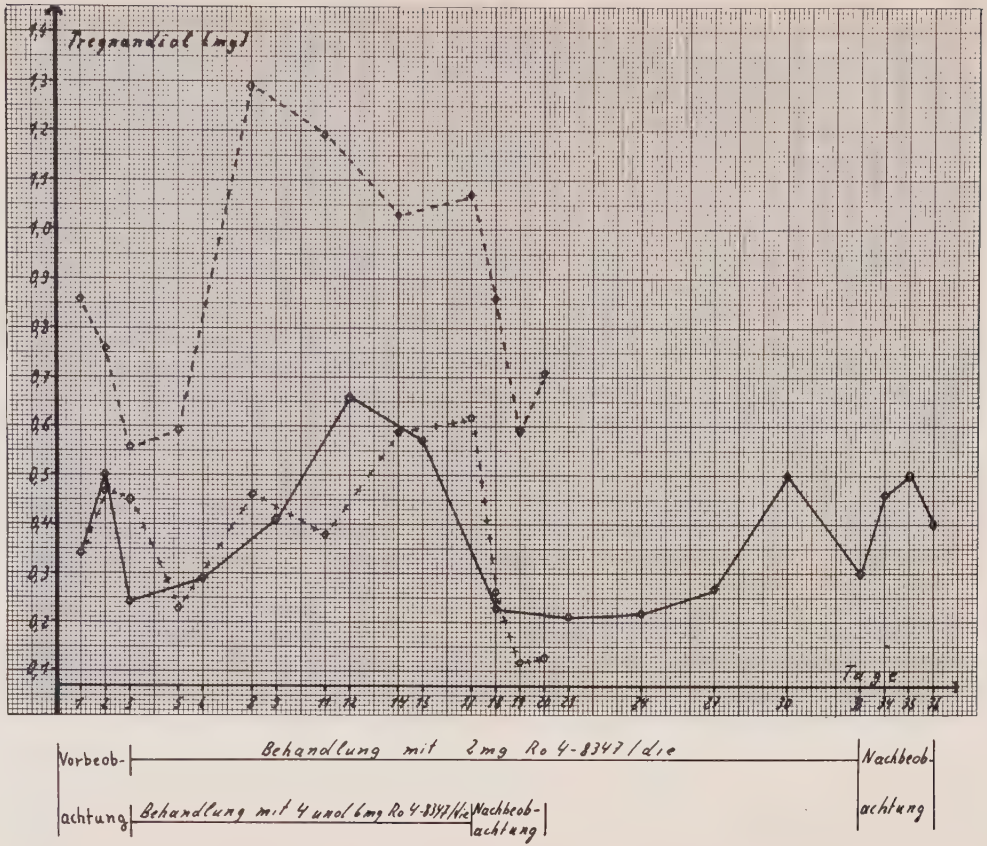


Abbildung 9: Vergleich der unterschiedlichen Pregnandiolausscheidung vor, während und nach der Behandlung mit 2 mg (——), 4 mg (– – –) und 6 mg (+++) Ro 4-8347/die.

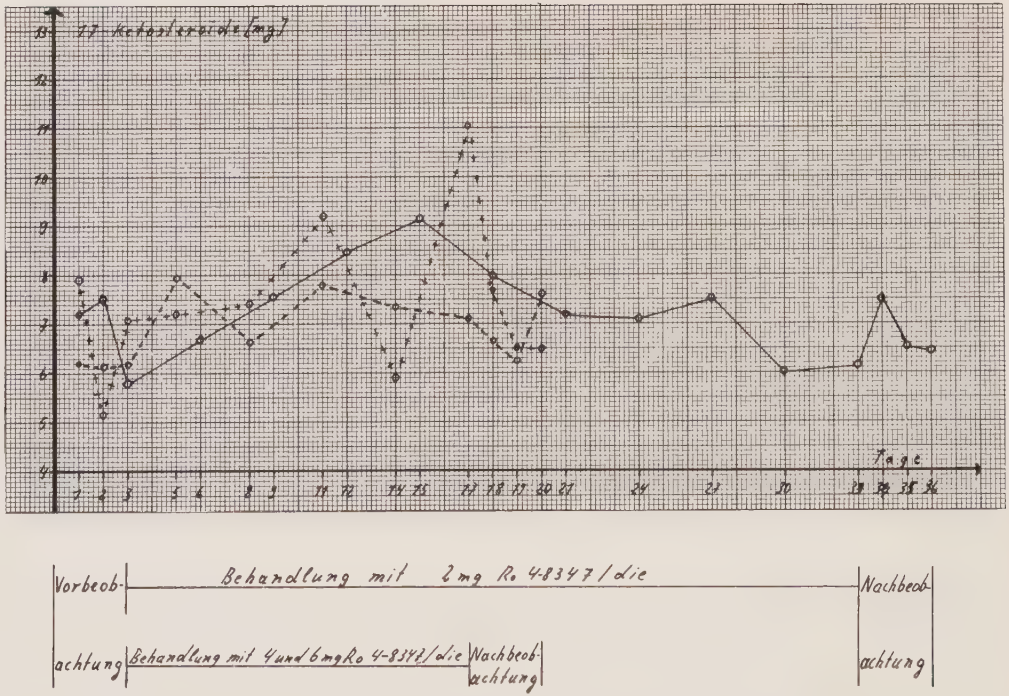


Abbildung 10: Vergleich der unterschiedlichen 17-Ketosteroidausscheidung vor, während und nach der Behandlung mit 2 mg (——), 4 mg (– – –) und 6 mg (+ + +) Ro 4-8347/die.

handlung. In keiner der drei Serien wurde unter der Ro 4-8347-Behandlung der höchste Ausgangsleerwert erreicht.

Frau G., F.: Unter 2 mg Ro 4-8347/die zeigte sich im Vergleich zu den Werten in der Vor- und Nachbeobachtungsperiode eine Verminderung der Gonadotropinausscheidung. In den beiden folgenden Serien (4 und 6 mg Ro 4-8347/die) war die Gonadotropinausscheidung unter der Ro 4-8347-Behandlung im Vergleich zu den Ausgangsleerwerten deutlich erhöht. Ein Anstieg erfolgte jeweils am 2. Kontrolltermin während der Ro 4-8347-Einnahme (entspricht einer 5tägigen Ro 4-8347-Behandlung).

Frau K., C.: In allen drei Serien lag der höchste Einzelwert unter der Ro 4-8347-Behandlung deutlich über dem höchsten, während der Ausgangsperiode gefundenen Wert; die Mittelwerte waren unter der Behandlung im Vergleich zu den Ausgangswerten deutlich erhöht. Auch hier lag der Anstieg der Gonadotropinaktivität am Tag der 2. Ausscheidungsbestimmung unter der Ro 4-8347-Einnahme (entspricht einer 5tägigen Ro 4-8347-Einnahme).

Frau L., H.: Während der ersten Serie (2 mg Ro 4-8347/die) lag der Mittelwert der Gonadotropinausscheidung in der Vorbeobachtungsperiode deutlich über dem, der unter der Ro 4-8347-Behandlung gefunden wurde. Charakteristisch für die Gonadotropinausscheidung während der Serie II (4 mg/die) und der Serie III (6 mg/die) ist ein Anstieg gegen Ende der Behandlung (13. Tag der Ro 4-8347-Einnahme). Die abschließenden Leerwerte sind dementsprechend höher als die in der Vorbeobachtungsperiode gefundenen. In der Serie III (6 mg/die) wird ein erster Gipfel der Gonadotropinausscheidung auch am Anfang der Ro 4-8347-Einnahme gefunden (2. Tag der Ro 4-8347-Einnahme).

Insgesamt zeigte sich, daß bei 3 von 4 Frauen unter der Ro 4-8347-Einnahme eine gesteigerte Aktivität der Gonadotropinausscheidung im Urin vorhanden war. Während bei Frau K., C. schon unter 2 mg Ro 4-8347/die eine erhöhte Gonadotropinausscheidung

gefunden wurde, zeigte sich bei Frau G., F. und Frau L., H. erst unter 4 bzw. 6 mg/die eine erhöhte Gonadotropinaktivität im Urin. Bei Frau B., F. konnte in allen drei Serien unter der Ro 4-8347-Behandlung eine eindeutige Gonadotropinausscheidungsverminderung nachgewiesen werden.

Charakteristischerweise wurde die vermehrte gonadotrope Aktivität im Urin während der Behandlung mit 4 und 6 mg Ro 4-8347/die zu Beginn der Ro 4-8347-Einnahme (2. - 5. Tag) bei Frau B., F.; Frau G., F und Frau L., H. und an derem Ende bei Frau L., H. (11. Tag der Ro 4-8347-Einnahme) nachgewiesen.

Der Vergleich der Mittelwerte der einzelnen Serien (2, 4 und 6 mg Ro 4-8347/die) ergibt folgendes: die drei unter der Ro 4-8347-Therapie gefundenen Mittelwerte der Gonadotropinausscheidung unterscheiden sich nicht signifikant. Die absolut höchste Gonadotropinausscheidung wurde während der Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347 gefunden. Während aller drei Behandlungsserien folgte nach einer anfänglichen Gonadotropinausscheidungssenkung eine einmalige Gonadotropinausscheidungserhöhung, die jeweils am 12. Tag (2 mg Ro 4-8347/die) und am 5. Tag (4 mg und 6 mg Ro 4-8347/die) einsetzte. Diese Ausscheidung am 5. Tag der Behandlung unterscheidet sich signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit geringer als 1 %) von den mittleren Gonadotropinausscheidungswerten der Vorbeobachtungsperioden.

.52 Pregnandiol: Wenn auch in allen drei Serien unter der Ro 4-8347-Therapie die Pregnandiolausscheidung etwas erhöht war, so ergab der Mittelwertvergleich von Ausgangsleerwerten und den unter der Ro 4-8347-Therapie gefundenen in keiner der drei Serien einen signifikanten Unterschied. Ein Vergleich der Leerwerte der drei Serien untereinander läßt in keinem Falle signifikante Unterschiede erkennen. Die unter der Ro 4-8347-Therapie gefundenen Mittelwerte unterscheiden sich untereinander in allen drei Serien nicht signifikant voneinander.

Ro 4-8347 scheint die Pregnandiolausscheidung im Urin nicht zu beeinflussen.

.53 17-Ketosteroide: Für die 17-Ketosteroide gilt ebenfalls, daß sie unter der Ro 4-8347-Einnahme geringfügig vermehrt ausgeschieden wurden. Der Vergleich der Mittelwerte, die in der Ausgangsperiode gefunden wurden, zeigt in keinem Falle signifikante Unterschiede. Aus den Vergleichen von Ausgangsleerwertmittelwerten und den Mittelwerten, die unter der Ro 4-8347-Therapie gefunden wurden - diese ergeben in keinem Falle signifikante Unterschiede - kann geschlossen werden, daß es unter der Ro 4-8347-Therapie allenfalls zu einer geringfügigen Erhöhung der 17-Ketosteroide kommt. Der Unterschied zwischen den während der Behandlung mit 4 und 6 mg Ro 4-8347/die gefundenen mittleren Ausscheidungswerten ist nicht signifikant. Die Mittelwerte, die während der Behandlung mit 2 und 4 mg Ro 4-8347/die bzw. 2 und 6 mg Ro 4-8347/die gefunden wurden, unterscheiden sich nicht signifikant. Absolut ist die 17-Ketosteroidausscheidung am ausgeprägtesten erhöht unter 6 mg Ro 4-8347/die.

.54 Verträglichkeit: Keine der vier Frauen klagte über irgendeine Unverträglichkeitsreaktion (Kopfschmerzen, Magen-, Darmbeschwerden, etc.) während der Einnahme von Ro 4-8347. Drei Frauen (Frau G., F.; Frau K., C. und Frau L., H.) konnten auch keine anderen, durch das Medikament hervorgerufene Wirkungen feststellen. Frau B., F. war die einzige der vier Frauen, die vor Beginn der Untersuchungen in unregelmäßigen Abständen Schmierblutungen hatte. Während der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die kam es am 11. - 18. Tag der Ro 4-8347-Einnahme zu einer Blutung, die, wie Frau B., F. angab, "ganz normal wie mit 18 Jahren" gewesen sei. Die Basaltemperaturkurve weist an diesem Zeitpunkt einen deutlichen Gipfel, die Gonadotropinausscheidungskurve einen unauffälligen Verlauf auf. Diese Blutung ist als Durchbruchsblutung zu interpretieren.

Anschließend und bis zum jetzigen Zeitpunkt (ein Jahr später) traten bei der Patientin keine Depressionen und Angstzustände

(siehe Anamnese) mehr auf; sie fühlt sich nach eigenen Angaben "elastisch" und "aktiv". Diese Wirkung des Medikamentes scheint, wenn auch nur an einer Patientin beobachtet, von besonderer Bedeutung zu sein.

2.00 Untersuchungen an oligo- und amenorrhoischen Frauen

.10 Vorbemerkung: Den Untersuchungen über die Wirkung, die das Medikament Ro 4-8347 auf Frauen im Klimakterium ausübt, schlossen sich weitere an, deren Ziel es war, die medikamentöse Wirkung von Ro 4-8347 weiter abzuklären. Nachdem die Voruntersuchungen ergaben, daß Ro 4-8347 wahrscheinlich die Gonadotropinsekretion der Hypophyse zu steigern vermag und in einem Falle eine periodenartige Blutung ausgelöst werden konnte, erschien es sinnvoll, mit Hilfe von Ro 4-8347 zu versuchen, den Zyklus von Oligo- und amenorrhoischen Patientinnen zu normalisieren. Da die Überwachung dieser Patientinnen sich schwieriger gestaltete als die der vier ausgewählten Frauen der Voruntersuchung, wurde auf eine häufige Kontrolle der Gonadotropin- und 17-Ketosteroidausscheidung verzichtet. Im Vordergrund stand die gynäkologische Überwachung in der Klinikssprechstunde sowie die Messung der Basaltemperatur durch die Patientin.

Für jede der Patientinnen wurde entsprechend der gynäkologischen Diagnose Zeitpunkt, Dauer und Dosis der Ro 4-8347-Therapie individuell bestimmt (siehe Anamnesen). In den meisten Fällen wurden initial 4 mg Ro 4-8347/die über 10 - 14 Tage gegeben. Die weitere Behandlung richtete sich danach, ob im nächsten Intermenstruum die Basaltemperatur biphasisch wurde.

Da für jede Patientin nur relativ wenig Gonadotropin- und 17-Ketosteroidbestimmungen vorliegen (auf die Pregnandiolbestimmung wurde verzichtet), wurden nur in einigen Fällen statistische Auswertungen durchgeführt.

. 20 Anamnesen und Ergebnisse:

1. Frau A., W. Alter: 19 Jahre

Die Patientin befindet sich seit September 1966 in ambulanter Behandlung in der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 12 Jahren, die Periode sei 1 Jahr lang regelmäßig, danach nicht mehr aufgetreten. Die Patientin wurde auswärtig mit Hormonen behandelt, der Zyklus stabilisierte sich nicht.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: sekundäre Amenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347: 9.5. - 13.5.68 6 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	18./19.3.68	5,5 I.E.
	12./13.5.68	7,0 I.E.
	30./31.7.68	14,0 I.E.
2. 17-Ketosteroide	13./14.11.66	7,9 mg

Therapieergebnisse: Im Anschluß an die Behandlung mit Ro 4-8347 trat am 16. - 22.5.68 eine Blutung auf. Die Basaltemperaturkurve zeigte jedoch einen monophasischen Verlauf, der Zyklus stabilisierte sich nicht.

2. Frau A., I. Alter: 26 Jahre

Die Patientin befindet sich seit September 1967 in ambulanter Behandlung in der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 14 Jahren, regelmäßige 28tägige Periode von 4 Tagen. Die Patientin sei seit Dezember 1962 amenorrhoisch gewesen. Durch den Hausarzt sei Anfang 1963 Progynon^{R} und Primolut^{R} in fallender Dosierung verordnet worden. Seit Mitte 1966 ohne Behandlung, es sei keine Periode mehr aufgetreten.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: Verdacht auf psychogene Zyklusstörung
Therapie mit Ro 4-8347: 1. - 12.12.67 4 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	3./4.12.67	unter 3 I.E.
	13./14.12.67	unter 3 I.E.
	22./23.12.67	unter 3 I.E.
2. 17-Ketosteroide	4./5.12.67	8,8 mg
	28./29.11.67	8,2 mg

Therapieergebnisse: Es kam während und im Anschluß an die Behandlung mit Ro 4-8347 weder zu einer Erhöhung der Basaltemperatur noch zu einer Blutung. Beschwerden wurden nicht angegeben.

3. Frau B., I. Alter: 28 Jahre

Die Patientin befindet sich seit Oktober 1966 in ambulanter Behandlung in der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 14 Jahren, die Periode sei bis 1959 regelmäßig alle 3 - 4 Wochen und 3 - 5 Tage lang aufgetreten. Von dann ab unregelmäßige Periode im Abstand von 3 - 6 Wochen. In einem auswärtigen Krankenhaus hätte sie "Hormontabletten" bekommen.

Basaltemperatur: biphasisch
Diagnose: Hypogonadotrophe Regelstörung
Therapie mit Ro 4-8347: 9. - 21.12.67 4 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	26./27. 5.67	unter 3 I.E.
	11./12.11.67	unter 3 I.E.
	17./18.11.67	unter 3 I.E.
	18./19.12.67	unter 3 I.E.
2. 17-Ketosteroide	30./31. 5.67	13,6 mg
	11./12.11.67	13,5 mg
	16./17.11.67	17,9 mg

Therapieergebnisse: Nach Beendigung der Ro 4-8347-Therapie kam es zu einer Blutung vom 22. - 25.12.67. Weitere Blutungen traten am 20. - 26.1.68 und am 15.2. (Dauer nicht bekannt) auf. Nach der Therapie mit Ro 4-8347 scheint sich der Zyklus stabilisiert zu haben.

4. Frau B., L. Alter: 34 Jahre

Die Patientin befindet sich seit November 1967 in ambulanter und stationärer Behandlung in der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 15 Jahren. Die Periode sei von Anfang an unregelmäßig alle 2 - 8 Wochen 6 -8 Tage lang aufgetreten. 1966 sei in einem auswärtigen Krankenhaus eine Abrasio durchgeführt worden. 1967 sei eine Pertubation erfolgt mit beidseitig positivem Ergebnis.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: primäre Sterilität, Oligomenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347:

17. - 29.11.67	4 mg/die
12. - 21.12.67	4 mg/die
25.1. - 4.2.68	4 mg/die
14.2. über 24.2.68 hinaus	4 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	21./22.11.67	7 I.E.
	26./27.11.67	unter 3 I.E.
	11./12.12.67	unter 3 I.E.
	17./18.12.67	unter 3 I.E.
	19./20. 1.68	unter 3 I.E.

2. 17-Ketosteroide	21./22.11.67	3,5 mg
	26./27.11.67	4,2 mg
	11./12.12.67	4,2 mg

3. Abrasio: Wegen Blutungen aus einem Cervixpolypen wurde am 20.2.68 eine Abrasio durchgeführt, die gleichzeitig zur Kontrolle der Ro 4-8347-Therapie diente. Es fand sich Sekretionsendometrium. Die Entwicklung war zyklusgerecht.

Therapieergebnisse: Vom 29.11. - 5.12.67 trat eine Blutung auf. Bericht vom 19.2.: "Früher oligomenorrhoische, anovulatorische Zyklen. Während der letzten drei Zyklen wurde Ro 4-8347 gegeben. Danach war im Dezember der Basaltemperaturverlauf biphasisch." Der Zyklus stabilisierte sich für ca. 3 Monate.

5. Frau B., K. Alter: 28 Jahre

Die Patientin befindet sich seit März 1967 in ambulanter Behandlung in der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 17 Jahren. Seitdem Oligomenorrhoe.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: Oligomenorrhoe

Therapie mit Ro 4-8347:	25.1. - 3.2.68	4 mg/die
	29.3. - 2.4.68	6 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	4./ 5.11.67	3,6 I.E.
	28./29. 1.68	15,0 I.E.
	31.3./1.4.68	4,2 I.E.
2. 17-Ketosteroide	6./ 7. 7.67	9,1 mg
	10./11. 3.68	12,1 mg

Therapieergebnisse: Am 8.2.68 - 11.2.68 kam es im Anschluß an die Behandlung mit Ro 4-8347 zu einer Blutung. Die Basaltemperatur blieb monophasisch. Nach der Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die trat am 7.4.68 eine Blutung auf, die 5 Tage anhielt. Anschließend erfolgte eine erneute Behandlung mit Ro 4-8347 nicht mehr. Der Zyklus stabilisierte sich (Blutungen am 11.7.68 - 15.7.68 und am 16. - 20.8.68). Am 3.12.68 wurde bei der Patientin eine Schwangerschaft festgestellt, die sich zu diesem Zeitpunkt im 3. bis 4. Monat befand.

6. Frau F., U. Alter: 25 Jahre

Die Patientin befindet sich seit Februar 1968 in ambulanter Behandlung in der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 16 - 17 Jahren. Die Periode sei unregelmäßig alle 6 - 8 Wochen und mit 3 - 4tägiger Dauer aufgetreten.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: Oligomenorrhoe

Therapie mit Ro 4-8347:	28. 6. - 2. 7. 68	6 mg/die
	19. 9. - 21. 9. 68	8 mg/die
Untersuchungsergebnisse:		
Gonadotropine	6./ 7. 6. 68	4,0 I. E.
	23./24. 6. 68	11,0 I. E.

Therapieergebnisse: Vom 7. - 10. 7. 68 kam es zu einer Blutung. Die Basaltemperaturkurve zeigte einen monophasischen Verlauf. Die nächste Blutung erfolgte vom 3. 9. 68 bis zum 10. 9. 68 nach biphasischem Verlauf der Basaltemperaturkurve. Im Anschluß an die 2. Ro 4-8347-Therapie kam es zu einer Abbruchblutung, die vom 26. - 29. 9. 68 dauerte. Ob der Zyklus sich stabilisiert hat, kann wegen der kurzen Nachbeobachtungszeit nicht ausreichend beantwortet werden.

7. Frau F., H. Alter: 27 Jahre

Die Patientin befindet sich seit April 1967 in ambulanter Behandlung in der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 14 Jahren. Die Periode trat bis 1961 regelmäßig alle 30 - 35 Tage auf und dauerte 6 - 7 Tage. Seitdem allmählich zunehmende Oligomenorrhoe. Seit 1963 Amenorrhoe. Die letzte Periodenblutung trat 1966 nach Primosiston^{R} auf.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: sekundäre Amenorrhoe

Therapie mit Ro 4-8347:	13. 9. - 4. 10. 67	4 mg/die
	21. 11. - 5. 12. 67	4 mg/die
Untersuchungsergebnisse:		
1. Gonadotropine	9./10. 4. 67	4,8 I. E.
	30./31. 5. 67	3,6 I. E.
	18./19. 11. 67	3,0 I. E.
	27./28. 11. 67	unter 3,0 I. E.
	4./ 5. 12. 67	unter 3,0 I. E.
2. 17-Ketosteroide	10./11. 4. 67	11,0 mg
	11./12. 9. 67	9,8 mg
	19./20. 9. 67	10,9 mg
	26./27. 9. 67	9,7 mg
	3./ 4. 10. 67	10,5 mg
	26./27. 11. 67	12,4 mg

Therapieergebnisse: Die Basaltemperatur blieb unter der Behandlung mit Ro 4-8347 niedrig. Am 5. - 10. 10. hat die Patientin (nach Absetzen von Ro 4-8347) "wie normal" geblutet. Der Zyklus stabilisierte sich jedoch nicht.

8. Frau H., M. Alter: 30 Jahre

Die Patientin befindet sich seit Februar 1968 in ambulanter Behandlungin der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 17 Jahren. Von Anfang an habe eine Oligomenorrhoe (Menses etwa vierteljährlich, Dauer 3 - 4 Tage) bestanden.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: Oligomenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347: 18. - 22. 6. 68 6 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

Gonadotropine	2./ 3. 4. 68	3,3 I. E.
	23./24. 5. 68	6,0 I. E.
	20./21. 6. 68	unter 3,0 I. E.

Therapieergebnisse: Vom 26. 6. - 28. 6. 68 trat im Anschluß an die Ro 4-8347-Behandlung eine Blutung auf. Anschließend verlief die Basaltemperaturkurve biphasisch, die Periodenblutung trat am 16. 7. 68 spontan auf und dauerte 4 Tage. Bis September 1968 erfolgte keine neue Blutung, die Basaltemperatur blieb niedrig. Der Zyklus scheint sich noch nicht stabilisiert zu haben.

9. Frau He., M. Alter 19 Jahre

Die Patientin befindet sich seit November 1967 in ambulanter Behandlung in der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 14 Jahren. Anschließend ein Jahr lang regelmäßige Periode von 4 Wochen mit 2tägigen Blutungen. Danach seien die Blutungen unregelmäßig alle 4 - 12 Wochen mit 2tägiger Dauer aufgetreten. Seit 2 Jahren bestände eine Amenorrhoe. Diese ist, wie die Anamnese ergibt, wahrscheinlich konfliktbedingt.
Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: sekundäre psychogene Amenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347: 2. - 5. 5. 68 6 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

Gonadotropine	16./17. 12. 67	unter 3,0 I. E.
	5./ 6. 5. 68	3,0 I. E.
	17./18. 6. 68	4,0 I. E.
	18./19. 8. 68	11,0 I. E.

Therapieergebnisse: Vom 9. - 12. 5. 68 trat nach der Ro 4-8347-Therapie eine Blutung auf. Im Juni und Juli 1968 wurde der Verlauf der Basaltemperaturkurve biphasisch. Am 7. 7. 68 trat eine spontane 1tägige Blutung auf. Der Zyklus scheint sich bislang nicht stabilisiert zu haben.

10. Frau K., I. Alter: 22 Jahre

Die Patientin befindet sich seit Februar 1967 in ambulanter Behandlung in der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 16 Jahren. Seitdem Oligomenorrhoe. Die Blutungen treten alle 8 Wochen bis 6 Monate auf und dauern 7 Tage lang. Die letzte Periode sei im November 1966 nach Behandlung mit Primogonyl^{R} aufgetreten.
Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: primäre Oligomenorrhoe

Therapie mit Ro 4-8347: 11. - 25. 9.67 4 mg/die
17. - 31.10.67 6 mg/die
11. - 25.11.67 4 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	27./28. 7.67	unter 3 I.E.
	14./15. 9.67	9 I.E.
	24./25. 9.67	6 I.E.
	14./15.10.67	4,8 I.E.
	21./22.10.67	3,6 I.E.
	28./29.10.67	3,0 I.E.
	29./30.10.67	3,8 I.E.
2. 17-Ketosteroide	28./29. 6.67	13,5 mg
	7./ 8. 7.67	17,0 mg
	14./15. 9.67	11,4 mg
	24./25. 9.67	11,6 mg
	30.9./1.10.67	6,8 mg
	14./15.10.67	11,8 mg
	21./22.10.67	19,9 mg
	28./29.10.67	14,5 mg

Therapieergebnisse: Die Basaltemperatur wurde während der ersten Ro 4-8347-Behandlung biphasisch. Während der zweiten Ro 4-8347-Behandlung stieg die Basaltemperatur ebenfalls an. Blutungen traten jeweils nach der Ro 4-8347-Therapie auf, und zwar vom 3. - 7.10.67 und vom 3. - 8.11.67. Der Zyklus scheint sich stabilisiert zu haben.

11. Frau K., R. Alter: 31 Jahre

Die Patientin befindet sich seit August 1967 in ambulanter Behandlung der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 16 Jahren. Menses früher unregelmäßig, alle 18 - 42 Tage. Sie dauerten 4 Tage. Zwei Geburten 1963 und 1965. Nach der letzten Geburt sei eine sekundäre Amenorrhoe eingetreten. Die letzte Periode sei nach einer Hormonbehandlung am 10.7.67 eingetreten.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: sekundäre Amenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347: 28.3. - 1.4.68 4 mg/die
Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	23./24. 9.67	unter 3,0 I.E.
	9./10.10.67	unter 3,0 I.E.
	22./23.11.67	unter 3,0 I.E.
	31.3./1.4.68	unter 3,0 I.E.
2. 17-Ketosteroide	9/10.10.67	11,8 mg

Therapieergebnisse: Die Patientin war vom 29.9. - 2.10.67 mit 50 mg/die Dyneric^{R} behandelt worden. Die Basaltemperatur blieb danach niedrig. Im November 67 erfolgte eine erneute Behandlung mit 100 mg/die Dyneric^{R}. Danach verlief die Basaltemperaturkurve biphasisch. 11 Tage nach dem Temperaturanstieg wurde am 16.12.67 eine Strichabrasio

durchgeführt, die folgendes Ergebnis zeigte: "In Zerfall und Abstoßung befindliches Endometrium nach ausreichender Transformation." Am 18. 2. 68 erfolgte spontan eine 5tägige schwache Blutung. Im Anschluß daran blieb die Basaltemperatur niedrig. Am 5. 4. 68, nach der Ro 4-8347-Behandlung, setzte eine schwache Blutung ein, die 4 Tage dauerte. Anschließend wurde die Basaltemperaturkurve biphasisch, am 3. 5. 68 erfolgte eine stärkere 4 Tage dauernde Blutung. Am 18. 6. 68 wurde eine sich im 2. Monat befindende Schwangerschaft festgestellt.

12. Frau L., H. Alter: 29 Jahre

Die Patientin befindet sich seit September 1966 in ambulanter Behandlung der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 13 Jahren. Bis zum 16. Lebensjahr sei die Periode regelmäßig alle 28 Tage aufgetreten und hätte 3 - 4 Tage gedauert. Danach sei sie alle 14 - 21 Tage mit 6 - 7tägiger Dauer aufgetreten. Seit 1959 sei die Periode ohne Hormontabletten nicht mehr eingetreten.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: primäre Sterilität
Therapie mit Ro 4-8347: 11. 11. - 21. 11. 67 4 mg/die
6. 12. - 17. 12. 67 4 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	8./ 9. 7. 67	14,4 I. E.
	11./12. 11. 67 unter	3,0 I. E.
	20./21. 11. 67 unter	3,0 I. E.
	11./12. 12. 67 unter	3,0 I. E.
	30./31. 3. 68	3,2 I. E.
2. 17-Ketosteroide	4./ 5. 6. 67	4,1 mg
	17./18. 9. 67	4,0 mg
	3./ 4. 10. 67	32,3 mg
	3./ 4. 11. 67	30,0 mg
	20./21. 11. 67	5,9 mg

Therapieergebnisse: Die Basaltemperatur stieg während der ersten Behandlung mit Ro 4-8347 an. Nach Absetzen des Medikamentes kam es zu einer Blutung vom 23. 11. - 26. 11. 67. Während der nächsten Behandlung stieg die Basaltemperatur nicht an. Nach Beendigung der Therapie kam es im Dezember und Januar zu einem biphasischem Verlauf der Basaltemperaturkurve. Bis August 1968 erfolgte die Periode termingerecht. Die Basaltemperatur blieb aber monophasisch.

13. Frau S., I. Alter: 27 Jahre

Die Patientin befindet sich seit Januar 1963 in ambulanter Behandlung in der Univ.-Frauenklinik. Menarche mit 14 Jahren. Periode bis 17 Jahre alle 4 - 6 Wochen mit 3 - 4tägiger Dauer. Seitdem Amenorrhoe. Vor September 1967 Hormonbehandlung durch den Hausarzt. Keine spontanen Blutungen.

Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: sekundäre Amenorrhoe
Therapie mit Ro 4-8347: 8. - 18. 2. 68 4 mg/die
12. - 16. 5. 68 6 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

Gonadotropine	17./18. 9. 67	unter 3,0 I. E.
	26./27. 11. 67	unter 3,0 I. E.
	1./ 2. 1. 68	3,5 I. E.
	12./13. 2. 68	unter 3,0 I. E.
	18./19. 3. 68	3,6 I. E.
	6./ 7. 5. 68	14,5 I. E.
	28./29. 5. 68	unter 3,0 I. E.

Therapieergebnisse: Vom 21. 2. - 23. 2. 68 und vom 21. 5. - 24. 5. 68 kam es - jeweils im Anschluß an die Ro 4-8347-Therapie - zu Blutungen. Die Basaltemperaturkurve blieb monophasisch. Angeblich traten nach der Behandlung mit Ro 4-8347 Brustschmerzen und gelegentlich Übelkeit auf. Am 28. 5. 68 wurde "ein rechts insgesamt etwas verhärteter Brustdrüsenkörper" festgestellt. Am 30. 7. 68 gab die Patientin an, daß sie seit 2 Monaten Kopfschmerzen habe.

14. Frau Z., H. Alter: 26 Jahre

Die Patientin befindet sich mit Unterbrechungen seit Juli 1959 in ambulanter Behandlung der Univ. -Frauenklinik. Menarche mit 13 Jahren. Die Periode sei bis Anfang 1958 regelmäßig (4 Wochen) gewesen. Anschließend sei sie unregelmäßig geworden und seit Juli 1959 sei die Patientin amenorrhoisch gewesen.
Basaltemperatur: monophasisch
Diagnose: Stein-Leventhal Syndrom
Therapie mit Ro 4-8347: 15. - 27. 12. 67 4 mg/die
16. - 26. 1. 68 4 mg/die

Untersuchungsergebnisse:

1. Gonadotropine	29./30. 10. 67	7,9 I. E.
	11./12. 12. 67	unter 3,0 I. E.
	18./19. 12. 67	12,0 I. E.
	21./22. 12. 67	10,5 I. E.
	20./21. 1. 68	16,0 I. E.
2. 17-Ketosteroide	11./12. 12. 67	17,2 mg
	8./ 9. 1. 68	14,8 mg

Therapieergebnisse: Bis zum Beginn der Behandlung mit Ro 4-8347 war bei der Patientin der Zyklus unregelmäßig alle 4 - 9 Wochen mit 4tägiger Dauer aufgetreten. Die Basaltemperatur, die bis Behandlungsbeginn monophasisch gewesen war, stieg während der ersten Ro 4-8347-Therapie an. Nach deren Ende trat vom 30. 12. – 2. 1. 68 eine Blutung auf. Anschließend ergab sich ein biphasischer Temperaturverlauf und nach der nächsten Ro 4-8347-Therapie trat die Blutung regelrecht am 30. 1. - 2. 2. 68 auf. Da das

Gesamt-17-Keto-Spektrum für ein Stein-Leventhal Syndrom sprach, wurde am 6. 2. 68 eine Keilexcision durchgeführt, die die Diagnose bestätigte.

.30 Zusammenfassung der Ergebnisse

.31 Gonadotropine: Bei 4 von 14 Patientinnen (Frau A., W.; Frau B., K.; Frau K., I. und Frau Z., H.) wurde unter der Ro 4-8347-Therapie eine im Vergleich zu den vorausgehenden Werten vermehrte Gonadotropinaktivität im Urin gefunden. Da bei den Patientinnen (Frau A., W. und Frau B., K.) teilweise zu wenig Gonadotropinbestimmungen durchgeführt wurden, konnten die Ergebnisse nur bei zwei dieser Patientinnen statistisch ausgewertet werden. Für die Patientin (Frau K., I.) ergab sich im Vergleich zu den Gonadotropinausscheidungswerten vor der Ro 4-8347-Einnahme unter der Ro 4-8347-Therapie eine nicht signifikante Ausscheidungszunahme. (Mittelwerte der Gonadotropinausscheidung: vor der Ro 4-8347-Therapie 3,9 ± 0,64 I.E., unter der Ro 4-8347-Therapie 5,1 ± 0,48 I.E.). Bei der Patientin (Frau Z., H.) stieg die Gonadotropinausscheidung unter der Ro 4-8347-Therapie im Vergleich zu den Ausgangswerten signifikant an. (Mittelwerte der Gonadotropinausscheidung: vor der Ro 4-8347-Therapie 5,0 ± 2,0 I.E., unter der Ro 4-8347-Therapie 12,80 ± 1,53 I.E. Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0,1 %). Bei einer Patientin (Frau B., L.) ist keine Aussage möglich, da der Ro 4-8347-Therapie keine Gonadotropinbestimmungen vorausgingen. Bei Frau F., U. wurden während der Ro 4-8347-Einnahme die Gonadotropine nicht bestimmt. Bei drei Patientinnen (Frau H., M.; Frau L., H. und Frau S., I.) waren die Gonadotropinwerte, die während der Ro 4-8347-Therapie gefunden wurden, niedriger als die der Vorbeobachtungsperiode. Bei 5 Frauen (Frau A., I.; Frau B., I.; Frau F., H.; Frau He., M. und Frau K., R.) blieb die Gonadotropinausscheidung im Urin während der Ro 4-8347-Einnahme unverändert.

.32 17-Ketosteroide: Die 17-Ketosteroide wurden nur bei zwei von vierzehn Frauen (Frau F., H. und Frau K., I.) während der Ro 4-8347-Therapie ausreichend häufig bestimmt. In beiden Fällen war die 17-Ketosteroidausscheidung, die während der Therapie mit Ro 4-8347 gefunden wurde, höher als vor deren Beginn. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten der Vorbeobachtungsperiode und der Therapie-Periode ist bei Frau F., H. nicht signifikant, während bei Frau K., I. eine signifikant höhere 17-Ketosteroidausscheidung gefunden wurde. (Mittelwerte der 17-Ketosteroidausscheidung: Frau F., H.: vor der Ro 4-8347-Therapie 10,4 ± 0,85 mg; unter der Ro 4-8347-Therapie 10,9 ± 5,88 mg. Frau K., I.: vor der Ro 4-8347-Therapie 12,26 ± 2,12 mg; unter der Ro 4-8347-Therapie 14,33 ± 1,83 mg; die Irrtumswahrscheinlichkeit beträgt 4 %.) Bei einer Patientin (Frau L., H.) wurden vor der Ro 4-8347-Therapie außerordentlich hohe 17-Ketosteroidwerte gefunden, die, da ihnen zwei wesentlich niedrigere Werte gegenüberstehen, nicht verwertet werden können.

.33 Basaltemperatur: Bei einer Patientin (Frau B., I.) verlief die Basaltemperatur bereits vor der Behandlung mit Ro 4-8347 biphasisch. Bei 9 Patientinnen (Frau B., L.; Frau B., K.; Frau F., U.; Frau H., M.; Frau He., M.; Frau K., R.; Frau K., I.; Frau L., H. und Frau Z., H.) wurde sie während und nach der Ro 4-8347-Therapie biphasisch. Bei 4 Patientinnen (Frau A., I.; Frau A., W.; Frau F., H. und Frau S., I.) hatte die Ro 4-8347-Therapie keinen Einfluß auf den Basaltemperaturkurvenverlauf.

.34 Blutungen: Insgesamt wurden nach 25 Behandlungen mit Ro 4-8347 über 18 Abbruchblutungen berichtet, die 1 - 5 Tage nach Absetzen des Medikamentes auftraten und durchschnittlich 3 - 6 Tage dauerten. Bei 13 von 14 Frauen trat im Anschluß an die initiale Therapie eine Blutung auf, entweder in Form einer Abbruchblutung (12 Frauen) oder in Form einer einer Ovulation folgenden Blutung (Frau K., I.). Bei dieser Patientin erfolgte während der zweiten

Ro 4-8347-Behandlung kein Anstieg der Basaltemperaturkurve, eine Abbruchblutung trat jedoch ebenfalls auf.

In einem einzigen Fall (Frau A., I.) konnte keine Blutung ausgelöst werden, die Basaltemperatur blieb monophasisch. Interessanterweise handelte es sich um eine der beiden Patientinnen, bei denen eine psychogene Regelstörung vermutet wurde. Eine Übersicht über die Therapieergebnisse mit Ro 4-8347 bei 14 oligo-, bzw. amenorrhoischen Patientinnen gibt Tabelle 4.

Name	Diagnose	Abbruchblutung	wenigstens 1 biphas. BT-Kurven-Verlauf nach Ro.	Schwangerschaft	Zyklusstabilisierung
A., W.	Sek. Amenorrhoe	+	—	—	—
A., I.	Psychog. Zyklusstrg.	—	—	—	—
B., I.	Hypogonad. Regelstrg.	+	+	—	(+)
B.[1], L.	Oligomenorrhoe	+	+	—	(+)
B., K.	Oligomenorrhoe	+	+	+	+
F., U.	Oligomenorrhoe	+	+	—	?
F., H.	Sek. Amenorrhoe	+	—	—	—
H., M.	Oligomenorrhoe	+	+	—	—
He., M.	Sek. psychog. Amen.	+	+	—	—
K., I.	Prim. Oligomen.	+	+	—	(+)
K., R.	Sek. Amenorrhoe	+	+	+	+
L., H.	Prim. Sterilität	+	+	—	+[2]
S., I.	Sek. Amenorrhoe	+	—	—	—
Z., H.	Stein-Leventhal[3]	+	+	—	0

Erklärungen: + = sicher positiv; (+) = wahrscheinlich; ? = fraglich; — = sicher negativ; 0 = nicht möglich

(1) Bei dieser Patientin wurde wegen Blutung aus einem Zervixpolypen eine Abrasio durchgeführt, die gleichzeitig zur Kontrolle der Ro 4-8347-Therapie diente (Siehe auch Seite 26).
(2) Regelmäßige Periodenblutungen, bei monophasischem Basaltemperaturkurvenverlauf.
(3) Diagnose durch Keilexcision bestätigt.

Tabelle 4: Ergebnisse der Behandlung mit Ro 4-8347 bei 14 Patientinnen mit Zyklusstörungen.

.35 Verträglichkeit und thermogenetischer Effekt: Nur eine der 14 Patientinnen berichtete während der Behandlung mit Ro 4-8347 über eine durch das Präparat hervorgerufene Unverträglichkeitsreaktion. Frau S., I. gab an, daß nach der Ro 4-8347-Therapie Brustschmerzen und gelegentlich Übelkeit aufgetreten seien. 12 Tage nach der letzten Ro 4-8347-Behandlung wurde "ein rechts insgesamt etwas verhärteter Brustdrüsenkörper" festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt gab die Patientin an, daß sie seit 2 Monaten (Beginn etwa 1 Monat nach der ersten Behandlung mit Ro 4-8347) Kopfschmerzen habe.

Aus den Basaltemperaturkurven ergab sich, daß Ro 4-8347 nicht thermogenetisch wirksam ist.

.36 Schwangerschaft: Bei 2 Patientinnen (Frau B., K. und Frau K., R.), die Kinderwunsch hatten, kam es nach der Zyklusnormalisierung durch Ro 4-8347 zu einer Schwangerschaft.

IV DISKUSSION

1.00 Zur Dosierung von Ro 4-8347

In der Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium) erwies sich Ro 4-8347 in einer Dosierung von 4 mg/die in bezug auf die Gonadotropinausscheidung am wirksamsten (siehe III, 1.51). Der Unterschied zwischen den während der Ro 4-8347-Einnahme gefundenen Mittelwerten und den Mittelwerten, die vor der Ro 4-8347-Therapie gefunden wurden, ist in den Dosisgruppen II (4 mg/die) und III (6 mg/die) signifikant. Ebenfalls signifikant (siehe III, 1.51) ist der Unterschied zwischen den Mittelwerten der Gonadotropinausscheidung, die während der Behandlung mit 2, 4, 6 mg Ro 4-8347/die gefunden wurden.

In der Untersuchungsgruppe II (oligo- und amenorrhoische Patientinnen) wurde meistens 4 mg Ro 4-8347/die gegeben. 6 mg Ro 4-8347/die wurden acht mal verabreicht, 8 mg Ro 4-8347/die ein mal. Insgesamt wurde 25 mal eine Ro 4-8347-Therapie durchge-

führt. 6 mg Ro 4-8347/die erwiesen sich bei einer Patientin (Frau F., H.) nach vorheriger, in bezug auf die Herbeiführung einer Basaltemperaturerhöhung unwirksamer Behandlung mit 4 mg Ro 4-8347/die ebenfalls als unwirksam. In den anderen Fällen war die Behandlung mit 6 mg Ro 4-8347/die im Anschluß an eine Behandlung mit 4 mg/die ebenfalls nicht erfolgreich. Ebensowenig erwies sich die initiale Therapie mit 6 mg/die, wie es in 4 Fällen (Frau A., W.; Frau F., U.; Frau H., M. und Frau He., M.) geschah, als wirksam. Günstiger wird es sein, die Therapie zunächst mit 4 mg Ro 4-8347/die zu beginnen und nur bei deren Versagen auf 6 mg Ro 4-8347/die überzugehen.

2.00 Gonadotropine

Albert (3) berichtet ausführlich über die verschiedenen Methoden zur Bestimmung der Gesamtgonadotropine aus dem Urin. Nachdem schon von anderen Autoren (30) gefunden wurde, daß seine Methode (1) der von Loraine und Brown (45) und der von Johnsen (35) angegebenen überlegen sei, kam Albert in seiner Arbeit zu dem Ergebnis, daß das von ihm angegebene Verfahren eine größere Gonadotropinaktivität pro aufgearbeitete Urineinheit gewinnt und daß insbesondere der aufgearbeitete Gonadotropinextrakt weniger toxisch ist. Das Verfahren von Albert wurde in dieser Arbeit angewendet, es ist nach Angaben des Autors (2) mit einer Fehlerbreite von mindestens ± 30 % behaftet. Unter I, 2.00 wurde angegeben, daß die Wirkung von Ro 4-8347 auf die Gonadotropinausscheidung von Frauen im Klimakterium möglicherweise besser zu kontrollieren sei, als bei Frauen im geschlechtsreifen Alter. Dem steht eine von Albert (2) gemachte Beobachtung entgegen, daß die Gonadotropinausscheidung in der Postmenopause in einem 3 - 5tägigen Rhythmus schwankt. Diese Angabe bedarf allerdings der Bestätigung (6). In dieser Arbeit wurde vor der Ro 4-8347-Behandlung an 3 aufeinanderfolgenden Tagen die Gesamtgonadotropinaktivität im Urin bestimmt. Dabei ergaben sich zum Teil tatsächlich große Schwankungen, die im Einzelfall 90 I.E. be-

trug. In der Mehrzahl der Fälle war die Differenz zwischen höchstem und niedrigstem Leerwert jedoch bedeutend geringer, so daß eine 3tägige Beobachtung der Gonadotropinausscheidung zur Bestimmung von mittleren Ausgangsleerwerten für unsere Zwecke ausreichend erschien.

Die Schwankung in der Ausscheidung um 100 % (4) an aufeinanderfolgenden Tagen läßt eine genaue Beurteilung der Gonadotropinaktivität problematisch erscheinen. Dennoch wird man die von Apostolakis und Loraine (5) für Frauen nach der Menopause angegebenen Werte (35 - 158 HMG - E/24 Std, Mittelwert 76 HMG - E/24 Std.) als Richtwerte benutzen können. Die in dem ersten Teil dieser Arbeit gefundenen mittleren Anfangsleerwerte liegen mit der Ausnahme des Leerwertes von Serie III (6 mg Ro 4-8347/die), der erheblich niedriger ist, am unteren Ende des von Apostolakis und Loraine angegebenen Wertbereiches. Als tiefster und höchster Einzelwert wurden 5,1 I.E. und 100,5 I. E. gefunden.

Die Hemmung der Gonadotropinbildung kann durch die verschiedensten Substanzen (Übersicht bei (6)) erzielt werden, am stärksten durch Oestrogene. Untersuchungen über die Wirkung von 6-Methyl-6-Dehydro-17-α-Acetoxyprogesteron (Megestrolacetat) und 17-α-Aethionyl-östradiol-3-Methylester auf die Ausscheidung der Gesamtgonadotropine bei Frauen in der Menopause und bei kastrierten Frauen ergaben, daß durch das Progesteronderivat keine Senkung der Gonadotropinaktivität im Urin erreicht werden konnte, während durch das Östradiolderivat eine charakteristische Verminderung der Gonadotropinausscheidung erreicht wurde; die Kombination beider Präparate (Delpregnin^{R}) war gleichermaßen gonadotropinsenkend wirksam (64). Eine Steigerung der Gonadotropinausscheidung durch chemische Substanzen wurde weniger oft beobachtet, unter anderem nach Gabe von Corticosteroiden (62), (67).

Es wird angenommen, daß Gestagene die Gonadotropinsekretion hemmen und auf diesem Wege die Ovulation verhindern. Allerdings läßt sich eine direkte Wirkung auf das Ovar zumindest bei einigen Gestagenen nicht ganz ausschließen (48). Angaben über die Gonadotropinausscheidung bei Tieren, die mit Ro 4-8347 behandelt wurden, liegen nicht vor, jedoch kann aus der Tatsache, daß Ro 4-8347 bei Ratten den Oestrus und damit die Ovulation hemmt (51), auf eine Unterdrückung der Gonadotropinproduktion (vermutlich LH (51)) geschlossen werden. Ein anderes synthetisches Gestagen, Clomiphencitrat, erwies sich im Parabioseversuch ebenfalls als Inhibitor der hypophysären Gonadotropine (12). Interessanterweise konnte die Mehrzahl der Untersucher (so unter anderen (31)) nach Behandlung mit diesem Präparat beim Menschen eine vermehrte Ausscheidung der Gesamtgonadotropine beobachten. Unter I, 1.20, wurde schon erwähnt, daß in 50 % der Fälle bei Frauen mit endokrin bedingter Amenorrhoe, Oligomenorrhoe oder Anovulation eine Ro 4-8347-Behandlung zu einem Anstieg der Gonadotropinausscheidung im Urin führte. Die Untersuchung dieser Arbeit an Frauen im Klimakterium haben ergeben, daß Ro 4-8347 in einer täglichen Dosis von 4 und 6 mg/die eine Steigerung der Gonadotropinaktivität im Urin hervorruft. Dabei ergab sich ein eingipfliger Anstieg nach 2 - 5tägiger Ro 4-8347-Einnahme (siehe Abbildung 12). Ein ähnlicher Ausscheidungsgipfel wurde auch nach der Verabreichung von Clomiphencitrat beobachtet (31).

Nach vorheriger Oestrogenbehandlung erwies sich Ro 4-8347 im Tierexperiment als stark progestativ wirksam. Daß Ro 4-8347 beim Menschen den gleichen Effekt ausübt, geht auch daraus hervor, daß sich der Ro 4-8347-Behandlung in den meisten Fällen Entzugsblutungen anschlossen (diese sind als progestative Entzugsblutungen aufzufassen) und in einem Falle (Frau B., L.) histologisch eine Transformation nachgewiesen wurde.

Kurz vor dem Zeitpunkt der Ovulation steigt die Gonadotropinausscheidung an (65). Bei den Ovulationen, die durch die Ro 4-8347-Therapie ausgelöst wurden, konnte dieser Gonadotropinanstieg nur bei einer Patientin (Frau K., I.) eindeutig beobachtet werden. Da die Gonadotropinbestimmung der Untersuchungsgruppe II (Oligo- und Amenorrhoen) im Vergleich zur Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium) nicht regelmäßig durchgeführt wurden, muß die Frage, ob Ro 4-8347 in der Mehrzahl der Fälle bei amenorrhoischen und oligomenorrhoischen Frauen eine Ovulation über eine vermehrte Gonadotropinsekretion der Hypophyse bewirkt, für diese Arbeit unbeantwortet bleiben.

Auf welchem Wege die Gonadotropinsekretion der Hypophyse stimuliert wird - ob Ro 4-8347, wie es auch für Clomiphencitrat diskutiert wird (61), über die Gonadotropinfreisetzungsfaktoren wirksam wird - das kann in dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Da Ro 4-8347 im Tierversuch (siehe 1.10) im Gegensatz zu Clomiphencitrat (12) weder oestrogen noch antioestrogen wirksam ist, scheint es, wie in bezug auf Clomiphencitrat angenommen wurde (55), auch nicht über einen Antagonismus oder eine Konkurrenz mit endogenem Oestrogen (endogenes Oestrogen hemmt dosisabhängig die Gonadotropinfreisetzung durch die Adenohypophyse) wirksam zu werden. Über den Effekt von Ro 4-8347 auf die Oestrogenproduktion bzw. Oestrogenausscheidung im Urin lagen bei Abschluß dieser Arbeit keine Angaben vor.

3.00 Pregnandiol

Die Auswertung der Pregnandiolchromatogramme bereitet, da es sich um eine eher subjektive Methode handelt, Schwierigkeiten. Das Besprühen der Platte mit Phosphomolybdat, die "Entwicklung" in der Wärmekammer, die Lichtverhältnisse beim Vergleich von Standardpregnandiol und Urinpregnandiol stellen besonders "empfindliche" Stationen dar. Ein Vergleich der Untersuchungsergebnisse aus den einzelnen Serien (2, 4, 6 mg Ro 4-8347 pro Tag) ist somit nur bedingt möglich. Die in den 3 Serien gefun-

denen mittleren Pregnandiolwerte der Vorbeobachtungsperiode (0,36 mg/die bei Serie I = 2 mg Ro 4-8347/die, 0,74 mg/die bei Serie II = 4 mg Ro 4-8347/die, 0,42 mg/die bei Serie III = 6 mg Ro 4-8347/die) lagen etwas außerhalb des von anderen Autoren (47) für das Alter von 51 - 66 Jahren angegebenen Streuungsbereiches (0,4-0,68 mg/die). Das Mittel aus diesen 3 Werten (0,51 mg/die) liegt nahe bei dem von diesen Autoren angegebenen Mittelwert (0,56 mg/die). Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß unterschiedliche Bestimmungsmethoden angewandt wurden (46).

In keiner der 3 Untersuchungsreihen konnte unter der Ro 4-8347-Einnahme eine signifikante Änderung der Pregnandiolausscheidung nachgewiesen werden. Da Ro 4-8347 chemisch dem Dydrogesteron verwandt ist, sei darauf hingewiesen, daß jenes bei normal menstruierenden Frauen eine nicht signifikante Abnahme der Pregnandiolausscheidung bewirkte (8). Als Hauptmetabolit dieser Verbindung wurde im Harn von Frauen nach der Menopause $\Delta^{4,6}$-Pregnandien-20α-ol-3-on, sowie auch das 20-β-Isomer festgestellt (16). Die Untersuchungsergebnisse aller 3 Serien stimmen mit Beobachtungen überein, die ergaben, daß Ro 4-8347 bei kastrierten Frauen keine Veränderung der Pregnandiolausscheidung bewirkt (51).

4.00 17-Ketosteroide

Die 17-Ketosteroidbestimmungsmethode nach Zimmermann wird zur klinischen Routineanalyse empfohlen (33). Fehlerquellen sind vor allem durch unreine Glassachen und verunreinigten Alkohol (Aldehyde und Ketone) hervorgerufen. In (51) werden keine Angaben über die Wirkung von Ro 4-8347 auf die 17-Ketosteroidausscheidung im Urin gemacht. Über die Wirkung von Dydrogesteron auf die 17-Ketosteroidausscheidung findet sich nur eine Beobachtung (24) an einer jugendlichen Patientin mit kongenitaler Nebennierenrinden-Hyperplasie, bei der keine Änderung der 17-Ketosteroidsekretion beobachtet werden konnte.

Sowohl bei der Untersuchungsgruppe I (Frauen im Klimakterium) als auch teilweise bei der Untersuchungsgruppe II (Frauen mit Zyklusstörungen) konnte unter 4 mg und 6 mg Ro 4-8347/die eine vermehrte 17-Ketosteroidausscheidung im Urin festgestellt werden, die abgesehen von dem Ergebnis bei einer der beiden Patientinnen der Untersuchungsgruppe II (Frau F., H.) signifikant war. Die in beiden Untersuchungsgruppen gefundenen 17-Ketosteroidmittelwerte lagen in allen Fällen im Bereich der altersentsprechenden Norm.

5.00 Basaltemperatur und thermogenetischer Effekt

Der Einfluß der endogenen Gestagenproduktion auf die Basaltemperatur kann auch an dem Ausbleiben der Temperatursenkung nach Eintritt einer Schwangerschaft (wie z.B. bei Frau B., K. und Frau K., R.) beobachtet werden. Durch Isomerisierung der 9,10-Verknüpfung im Progesteron (bei zusätzlicher Δ -6-Doppelbindung) geht der thermogenetische Effekt völlig verloren: weder bei gesunden noch bei amenorrhoischen Frauen konnte ein Einfluß von Dydrogesteron auf die Temperaturbildung gefunden werden (24). Ro 4-8347 ließ im Verlauf der Untersuchungen die gleichen Eigenschaften, die auch von anderen Autoren angegeben wurden, erkennen.

Bei 40 - 50 % der behandelten Patientinnen führte die alleinige Behandlung mit Ro 4-8347 zur Erhöhung der Basaltemperatur (51). In der vorliegenden Untersuchung konnte dieser Effekt bei 9 von 13 oligo- und amenorrhoischen Patientinnen beobachtet werden, also bei 69,2 %; bei einer Patientin war die Basaltemperatur schon vor Beginn der Ro 4-8347-Behandlung biphasisch.

6.00 Verträglichkeit

Die Verträglichkeitsprüfung mußte sich neben den subjektiven Angaben der Patientinnen auf den Basaltemperaturverlauf stützen. In keinem Falle wurden, wie ja schon aus den Angaben zur thermogenetischen Wirkung hervorgeht, außergewöhnliche Temperaturverläufe beobachtet. Nebenwirkungen, durch das Präparat ver-

ursacht (eventuell), wurden nur bei zwei Frauen beobachtet (Untersuchungsgruppe I: Frau B., F.; Untersuchungsgruppe II: Frau S., I.). Die klimakterischen Beschwerden, die Frau B., F. gelegentlich arbeitsunfähig gemacht hatten, traten im Anschluß an eine unter 6 mg Ro 4-8347/die aufgetretene Durchbruchsblutung nicht mehr auf. Die Frau gab an, vor der Behandlung mit Ro 4-8347 in unregelmäßigem Abstand Schmierblutungen gehabt zu haben. Nach der letzten Ro 4-8347-Therapie wurden diese nicht mehr bemerkt. Die Beobachtung, daß Ro 4-8347 in einer Dosis von 4 - 12 mg/die praemenopausale Meno-, Metrorrhagien beseitigt (51), kann, wenn auch nur durch eine Patientin, bestätigt werden. Frau S., I. gab an, daß nach der Ro 4-8347-Therapie Brustschmerzen und gelegentlich Übelkeit aufgetreten seien. 12 Tage nach der letzten Ro 4-8347-Behandlung wurde "ein rechts insgesamt etwas verhärteter Brustdrüsenkörper" festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt gab die Patientin an, daß sie seit 2 Monaten (Beginn etwa 1 Monat nach der ersten Behandlung mit Ro 4-8347) Kopfschmerzen habe. Ob diese Beschwerden durch die Therapie mit Ro 4-8347 verursacht wurden, bedarf der weiteren Abklärung.

7.00 Beantwortung der speziellen Fragestellung: (I, 2.00)

Zusammenfassend sind die unter I, 2.00, erwähnten Fragen zur Therapie mit dem Retrosteroid Ro 4-8347 folgendermaßen zu beantworten:

A Untersuchungsgruppe I (4 Frauen im Klimakterium)

1. Ro 4-8347 steigert in einer Dosis von 4 und 6 mg/die die Gonadotropinausscheidung im Urin am 5. Tag der Behandlung signifikant. Die absolut höchste Ausscheidungsvermehwurde unter 4 mg Ro 4-8347/die beobachtet. Insgesamt war während der Behandlung mit 4 und 6 mg Ro 4-8347/die die Gonadotropinausscheidung erhöht, aber nicht signifikant.
2. Die Pregnandiolausscheidung im Harn wird nicht beeinflußt.
3. Die 17-Ketosteroidausscheidung wurde unter 4 und 6 mg Ro 4-8347/die geringfügig (nicht signifikant) vermehrt gefunden.
4. Ro 4-8347 wirkt nicht thermogenetisch.
5. Ro 4-8347 wird gut vertragen. Ro 4-8347 konnte in einem Falle praemenopausale Menorrhagien und klimakterische Beschwerden beseitigen.

B Untersuchungsgruppe II (14 Frauen mit Oligo- oder Amenorrhoe)

1. Im allgemeinen wurde mit einer Initialdosis von 4 mg/die über ca. 13 Tage der günstigste Effekt erzielt.
2. Eindeutige Aussagen können über die Gonadotropin- und die 17-Ketosteroidausscheidung im Harn nicht gemacht werden (zu wenig Bestimmungen). Die Pregnandiolausscheidung wurde nicht kontrolliert.
3. Bei 9 von 13 Patientinnen (69,2 %), bei denen der Basaltemperaturkurvenverlauf vor der Ro 4-8347-Behandlung monophasisch gewesen war, konnte nach der alleinigen Gabe von Ro 4-8347 ein biphasischer Verlauf der Basaltemperatur beobachtet werden. Zwei Patientinnen wurden im Anschluß an die Ro 4-8347-Therapie schwanger.
4. Ein thermogenetischer Effekt konnte nicht beobachtet werden. Nebenwirkungen, deren Zusammenhang mit der Ro 4-8347-Therapie weiter abgeklärt werden müßte, traten nur in einem Falle auf: Kopfschmerzen, Übelkeit und eine "Verhärtung" einer Brust.

V ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von tierexperimentellen und ersten klinischen Befunden werden in dieser Arbeit die Ergebnisse weiterer klinischer Untersuchungen über das chemisch dem Dydrogesteron verwandte Retrosteroid Ro 4-8347 vorgelegt.

An einer ersten Untersuchungsgruppe von 4 Frauen, die sich in der Menopause bzw. Postmenopause befanden, wurde die Gonadotropin-, Pregnandiol-, 17-Ketosteroidausscheidung im Harn vor, während und nach einer jeweils mehrwöchigen täglichen Einnahme von 2, 4, 6 mg Ro 4-8347/die beobachtet.

Die Gonadotropinausscheidung stieg während der Behandlung mit 4 und 6 mg Ro 4-8347/die am 5. Behandlungstag signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1 %). Sie war am höchsten in der Versuchsreihe mit 4 mg Ro 4-8347/die, dagegen niedriger in der Versuchs-

reihe mit 6 mg Ro 4-8347/die. Die Gabe von 2 mg Ro 4-8347/die scheint die Gonadotropinausscheidung zu senken.

Während der Einnahme von 2, 4 und 6 mg Ro 4-8347/die veränderte sich die Pregnandiolausscheidung nicht signifikant.

Die 17-Ketosteroidausscheidung war unter der Einnahme von 4 und 6 mg Ro 4-8347/die nicht signifikant vermehrt.

Bei einer Patientin, die unter menopausalen Beschwerden litt (Menorrhagien, Angstzustände, Depressionen), kam es im Anschluß an die Behandlung mit 2, 4 und 6 mg Ro 4-8347/die zu einer dauernden Beschwerdenbefreiung.

Die Basaltemperatur unter 6 mg Ro 4-8347/die, von 3 Frauen gemessen, zeigte keine charakteristischen Veränderungen.

Das Medikament wurde gut vertragen.

In einer zweiten Untersuchungsgruppe wurde das Retrosteroid Ro 4-8347 insgesamt 14 Patientinnen mit oligo- und amenorrhoischen Beschwerden in einer Dosierung von 4, 6 und maximal 8 mg/die über einen mittleren Zeitraum von 13, 6 und 3 Tagen gegeben.

Die Bestimmung der Gonadotropinaktivität im Urin, die als Indikator einer möglichen Beeinflussung der Adenohypophyse galt, wurde nur bei zwei Patientinnen häufig genug durchgeführt. Bei beiden konnte eine - nur in einem Falle signifikante - gesteigerte Gonadotropinausscheidung im Harn beobachtet werden.

Die Pregnandiolausscheidung wurde nicht kontrolliert.

Die 17-Ketosteroidausscheidung, ebenfalls nur unter der Ro 4-8347-Therapie an zwei Patientinnen in ausreichendem Maße durchgeführt, war in beiden Fällen, davon in einem signifikant, erhöht.

Bei 9 von 13 Patientinnen (69,2 %) - bei einer Patientin verlief die Basaltemperaturkurve schon vor der Ro 4-8347-Therapie biphasisch - konnte unter der alleinigen Gabe von Ro 4-8347 ein Anstieg der Basaltemperatur beobachtet werden. Abbruchblutungen traten im Anschluß an 18 von 25 (72 %) durchgeführte Ro 4-8347-Behandlungen auf. Die Blutungen dauerten durch-

schnittlich 3 - 6 Tage und setzten durchschnittlich 1 - 4 Tage nach Absetzen des Präparates ein. Zwei der Patientinnen wurden im Anschluß an eine Behandlung mit Ro 4-8347 schwanger.

Ro 4-8347 war nicht thermogenetisch wirksam.

Das Präparat wurde mit Ausnahme einer Patientin sehr gut vertragen. Nebenwirkungen wurden an einer Patientin beobachtet; diese bedürfen der weiteren Abklärung.

Schlußfolgerung: Das Präparat Ro 4-8347 scheint zur Zyklusregulierung bei "hypogonadotropen idiopathischen" Oligo- bzw. Amenorrhoen geeignet zu sein.

VI LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERT, A.: Procedure for routine chemical determination of urinary gonadotropin
Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 30, 552 (1955)

2. ALBERT, A.: Human urinary gonadotropin
Rec. Progr. Horm. Res. 12, 227 (1956)

3. ALBERT, A.: The kaolin-acetone method for processing urine for the routine chemical assay of human pituitary gonadotropin
Acta endocr. (Kbh.) 52, Suppl. 106 (1966)

4. ALBERT, A., S. KELLY, L. SILVER, J. KOBI und L. BLOODSWORTH: Day-to-day fluctuation of human pituitary gonadotropin
J. clin. Endocrinol. & Metab. 18, 843 (1958)

5. APOSTOLAKIS, M. und J. A. LORAINE: Renal clearance of pituitary gonadotropin in postmenopausal women
J. clin. Endocrinol. & Metab. 20, 1437 (1960a)

6. APOSTOLAKIS, M. und K.-D. VOIGT: Gonadotropine, Stuttgart: Thieme 1965

7. BICKENBACH, W. und K. DÖRING: Die Sterilität der Frau, 2. Aufl. Stuttgart: Thieme 1964

8. BISHOP, P.M.F., U. BORELL, E. DICZFALUSY und K.G. TILLINGER: Effect of dydrogesterone in human endometrium and ovarian activity
Acta endocr. (Kbh.) 40, 203 (1962)

9. BLOBEL, R. und H.D. SCHLUMBERGER: Über die zentrale Steuerung der weiblichen Gonadenfunktion
Med. Welt 18 (N.F.), 3132 (1967)

10. BORTH, R., E. DICZFALUSY und H.D. HEINRICHS: Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen
Arch. Gynäk. 188, 497 (1957)

11. BUTT, W.R.: Hormone chemistry, London: D. van Nostrand Company Ltd. (1967)

12. CLOMIPHENE (MRL-41): Prüfbericht, Merrell Pharmazeutische Gesellschaft m.b.H., Groß-Gerau

13. COURRIER, R., A. COLONGE, E. SAKIZ, R. GUILLEMIN und M. JUTISZ: Présence dans un extrait salin d'hypothalamus d'une activité folliculo-stimulante de type FSH.
C.R. Acad. Sci. (Paris) 257, 1206 (1963)

14. COURRIER, R., R. GUILLEMIN, M. JUTISZ, E. SAKIZ und P. ASCHHEIM: Présence dans un extrait d'hypothalamus d'une substance qui stimule la sécrétion de l'hormone ante-hypophysaire de lutéinisation (LH).
C.R. Acad. Sci. (Paris) 253, 922 (1961)

15. ROMANOFF, L.P., C.W. MORRIS, P. WELCH, M.P. GRACE und G. PINCUS: Metabolism of progesterone-4-C in young and elderly men
J. clin. Endocrinol & Metab. 23, 286 (1963)

16. DICZFALUSY, E. und K.-G. TILLINGER: Metabolism of some progestionally active 9 -, 10 -steroids in man
Nature (London) 200, 79 (1963)

17. DOCUMENTA GEIGY: Wissenschaftl. Tabellen, 6. Aufl. Basel: (1960)

18. DOMINGUEZ, O.V.: Biosynthesis of steroids by testicular tumors complicating congenital adrenocortical hyperplasia
J. clin. Endocrinol & Metab. 21, 663 (1961)

19. DORFMANN, R.I.: in "The Hormones" Vol. I London-New York: Academic Press (1948)

20. DORFMANN, R.I.: Biochemistry of the steroid hormones
A. Rev. Biochem. 26, 523 (1957)

21. DORFMANN, R.I., E. FORCHIELLI, S. ISHII und J. KOWAL: Ovarian steroid biosynthesis. Proceedings of the second international congress of endocrinology. London: (1964)

22. FOGGITT, F. und A.W. STEINBECK: Normal adrenocortical response to corticotrophin
Acta endocr. 29, 347 (1958)

23. FRANKE, H.: Manuskript und Vortrag Stuttgart: Thieme (1967)

24. GIBIAN, H. und R. UNGER: Wirkung der Gestagene auf den Stoffwechsel. In "Handbuch der experimentellen Pharmakologie" Band XXII/1: "Die Gestagene" Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1968)

25. GOLDFINE, M.M. und S.L. COHEN: Glucuronidase hydrolysis for pregnanediol assays
Endocrinology 52, 597 (1953)

26. GRAY, C.H.: Klin. Biochemie. Stuttgart: Thieme (1967)

27. HALLER, J.: Ovulationshemmung durch Hormone. Stuttgart: Thieme

28. HARPER, A.H.: Review of physiological chemistry
Los Altos (California): Lange Medical Publications (1967)

29. HARRIS, G.W.: The induction of ovulation in the rabbit by electrical stimulation of hypothalamo-hypophyseal mechanism
Proc. Roy. Soc. (London) 122, 374 (1937)

30. HEINRICHS, H.D., und F. EULENFELD: Untersuchungen über die Extraktion von hypophysärem Gonadotropin aus Urin
Acta endocr. (Kbh) Suppl. 53, (1960)

31. HEINRICHS, H.D. und J. ZANDER: Die Ausscheidung hypophysären Gonadotropins bei Frauen mit Störung der Ovarialfunktion vor und während der Behandlung mit Clomiphen (MRL-41)
Klin. Wschr. 42, 15 (1964)

32. HOHLWEG, W. und M. DOHRN: Über die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und Keimdrüsen
Klin. Wschr. 11, 233 (1932)

33. HÜBENER, H.J. und W.H. STAIB: Biochemie der Nebennierenrinden Hormone Stuttgart: Thieme (1965)

34. JAYLE, M.-F.: Méthode de fractionnement et d'hydrolysie des sulfates et glucuronosides de stéroides
4. Int. Kongr. Biochem. Wien (1965/IV)
London-New York: Pergamon Press (1959)

35. JOHNSEN, S.G.: A clinical routine-method for the quantitative determination of gonadotrophins in 24-hour urine samples
Acta endocr. (Kbh) 28, 69 (1958)

36. JOHNSEN, S.G.: A clinical routine-method for the quantitative determination of gonadotrophins in 24-hour urine samples, II: Normal values for men and women at all age groups from prepuberty to senescence
Acta endocr. (Kbh) 31, 209 (1959)

37. KAISER, R. und I. CONRAD: Die Wirkung des Desoxycorticosterons auf die Genitalfunktion der Frau
Dtsch. med. Wschr. 81 1744 (1956)

38. KASE, N., E. FORCHIELLI und R. I. DORFMANN: In vitro production of testosterone, androst-4-ene, -3,17-dione in human ovarian homogenate
Acta endocr. (Kbh) 37, 19 (1961)

39. KLINEFELTER, H. F., F. ALBRIGHT und C. G. GRIESWOLD: Experience with a quantitative test for normal or decreased amounts of follicle-stimulating hormone in urine in endocrinological diagnosis
J. clin. Endocr. & Metab. 3, 529 (1943)

40. KLOPPER, A. I.: Aus (65) S. 33

41. KLOPPER, A. I. und M. C. MacNAUGHTON: The identification of pregnanediol in liquor amnii, bile and faeces
J. Endocr. 18, 319 (1959)

42. KNAUS, H.: Die fruchtbaren und unfruchtbaren Tage der Frau 28. und 29. Aufl. München-Berlin: Urban & Schwarzenberg (1958)

43. LANGECKER, H. und L. DAMROSCH: Der Stoffwechsel des Progesterons. In "Handbuch der experimentellen Pharmakologie" Band XXII/1.: "Die Gestagene" Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1968)

44. LIEBERMANN, S., B. MOND und E. SMYLES: Hydrolysis of urinary ketosteroid conjugates
Rec. Progr. Horm. Res. 9, 113 (1954)

45. LORAINE, J. A. und J. B. BROWN: A method for the qualitative determination of gonadotropins in non-pregnant human subjects
J. clin. Endocr. & Metab. 16, 1180 (1956)

46. MICHIE, F. A. und J. B. BROWN: A method for the determination of urinary pregnandiol
J. Endocr. 12, 209 (1955)

47. MICHIE., F. A. und J. B. BROWN: The excretion of urinary pregnandiol after the administration of progesterone
J. clin. Endocr. & Metab. 13, 360 (1956)

48. NEUMANN, F.: "Chemische Konstitution und pharmakologische Wirkung". In "Handbuch der experimentellen Pharmakologie" Band XXII/1.: "Die Gestagene" Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1968)

49. OERTEL, G.W.: Chemische Bestimmung von Steroiden im menschlichen Harn Berlin-Heidelberg-New York: Springer (1964)

50. Orientierung für die Klinik. Ro 4-8347 La Roche I

51. Orientierung für die Klinik. Ro 4-8347 La Roche II

52. PRADER, A.: Der Einfluß der Nebennierenrinde auf Wachstum und Geschlechtsentwicklung Mschr. Kinderhk. 14, 157 (1956)

53. RILEY, G.M.: Gynecologic endocrinology New York: Hoeber-Harper (1960)

54. ROGERS, J. und F. McLELLAN: Isolation of pregnanediol from human bile after oral administration of progesterone J. clin. Endocr. & Metab. 11, 246 (1951)

55. ROY, S., R.B. GREENBLATT, V.B. MAHESH und E.C. JUNGK: Clomiphene citrate. Further obeervations on its use in induction of ovulation in the human and on its mode of action Fertil. and Steril. 14, 575 (1963)

56. SCHALLY, A.V., A. KUROSHIMA, Y. ISHIDA, T.W. REDDING und C.Y. BOWERS: The presence of prolactin in hibiting factor (PIF) in extracts of beef, sheep, and pig hypothalami Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (N.Y.) 118, 350 (1965)

57. SCHALLY, A.V., P. SAITO, A. ANIMURA, F.E. MÜLLER, C.Y. BOWERS und W.F. WHITE: Purification of follicle-stimulating-hormone-releasing factor (FSH-RF) from bovine hypothalamus Endocrinology 79, 1087 (1966)

58. SHEN, N.-H.C., M.B. KATZMAN, F.E. FRANCIS und R. A. KINSELLA: Determination of pregnanolone, pregnanediol and pregnanetriol in urine J. Lab. clin. Med. 61, 174 (1963)

59. SCHNEIDER, J.J. und M. L. LEWBART: Fractionation and isolation of steroid conjugates Rec. Progr. Horm. Res. 15, 201 (1959)

60. SIMMER, H.: Discussion in "Standard secretion of the normal and polycystic ovary." By V.B. Mahesh and R.B. Greenblatt Rec. Progr. Horm. Res. 31, 20 (1964)

61. SMITH, O. W., G. V. SMITH und R. W. KISTNER: Action of MER-25 and of clomiphene on the human ovary
J. Amer. med. Ass. 184, 878 (1963)

62. SOHVAL, A. R. und L. J. SOFTNER: Influence of cortisone and adrenocorticotropin on urinary gonadotropine excretion
J. clin. Endocr. & Metab. 11 677 (1951)

63. SOMMERVILLE, I. F. und G. N. DESHPANDE: The quantitative determination of progesterone and pregnanediol in human plasma
J. clin. Endocr. & Metab. 18, 1223 (1958)

64. STARUP, J.: Excretion of gonadotropins during gestagen- and oestrogen-treatment. The excretion of total pituitary gonadotropin in menopausal and oophorcectomized women during treatment with 6- Methyl-6-Dehydro-17 - Acetoxyprogesterone and 17 -Ethynyl-oestradiol-3-Methylether respectively
Acta endocr. (Kbh) 54/4 637 (1967)

65. UFER, J.: Hormontherapie in der Frauenheilkunde 3.Aufl., Berlin: Walter de Gruyter (1966)

66. VENNING, E. M. und J. S. L. BROWNE: Studies on corpus luteum function. 1. The urinary excretion of sodium pregnanediol glucuronidate in the human menstrual cycle. Abstract from
Lancet 231, 1507 (1936)

67. VILLANER, E. und W. DÖLLE: Gonadotropinspiegel in Blut und Urin von Frauen mit idiopathischer Leberzirrhose in der Menopause
Acta hepato-splenol. Stuttgart: 9, 293 (1962)

68. WALDI, D.: Einfache quantitative Schnellbestimmung von Pregnandiol auf Dünnschichtplatten zum Frühschwangerschaftsnachweis und zur Überwachung des Zyklus bei der Frau
Klin. Wschr. 16, 827 (1962)

69. WEST, E. S., R. W. TODD, S. H. MASON und J. T. van BRUGGEN: Textbook of biochemistry New York: The Mac Millan Company (1966)

70. WESTMAN, A. und D. JACOBSOHN: Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des Hypophysenzwischenhirnsystems für die Produktion gonadotroper Hormone des Hypophysenvorderlappens
Acta obstret. Scand. (Schwd.) 17, 235 (1937)

71. ZIMMERMANN, W.: Chemische Bestimmungsmethoden von Steroidhormonen in Körperflüssigkeiten
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (1955)

72. ZIMMERMANN, W.: Eine Farbreaktion der Sexualhormone und ihre Anwendung zur quantitativen colorimetrischen Bestimmung
Ztschr. f. phys. Chemie 233, 257 (1935)

73. ZIMMERMANN, W., H.U. ANTON und D. PONTIUS: Die Eliminierung störender Chromogene bei der Bestimmung der 17-Ketosteroide mit m-Dinitrobenzol
Hoppe-Seylers Ztschr. physiol. Chem. 289, 91 (1952)

Herrn Oberarzt Dozent Dr. R. Blobel, der das Thema der Arbeit stellte, danke ich für die freundliche Unterstützung und die stete Leitung meiner Arbeit.

LEBENSLAUF

Als Sohn des Dipl. -Kfm. Erwin Schmidt und dessen Ehefrau Charlotte, geb. Binienda, wurde ich, Eberhard Schmidt, am 17. Januar 1941 in Berlin geboren. Meine Schulzeit verbrachte ich in Soltau, Hamburg, Düsseldorf und Altensteig, wo ich 1962 die Reifeprüfung bestand. Anschließend studierte ich drei Semester lang Rechtswissenschaft in Frankfurt (Main) und ab 1963 Medizin in Tübingen. Dort legte ich am 29. Juli 1969 mein medizinisches Staatsexamen ab.